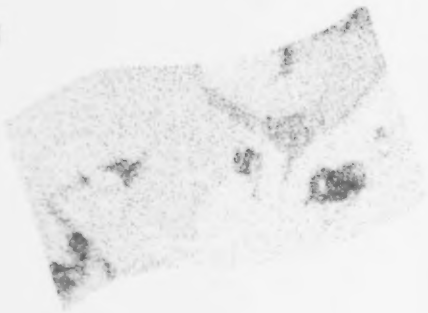
Caractérisation des bioaérosols en cabinets dentaires

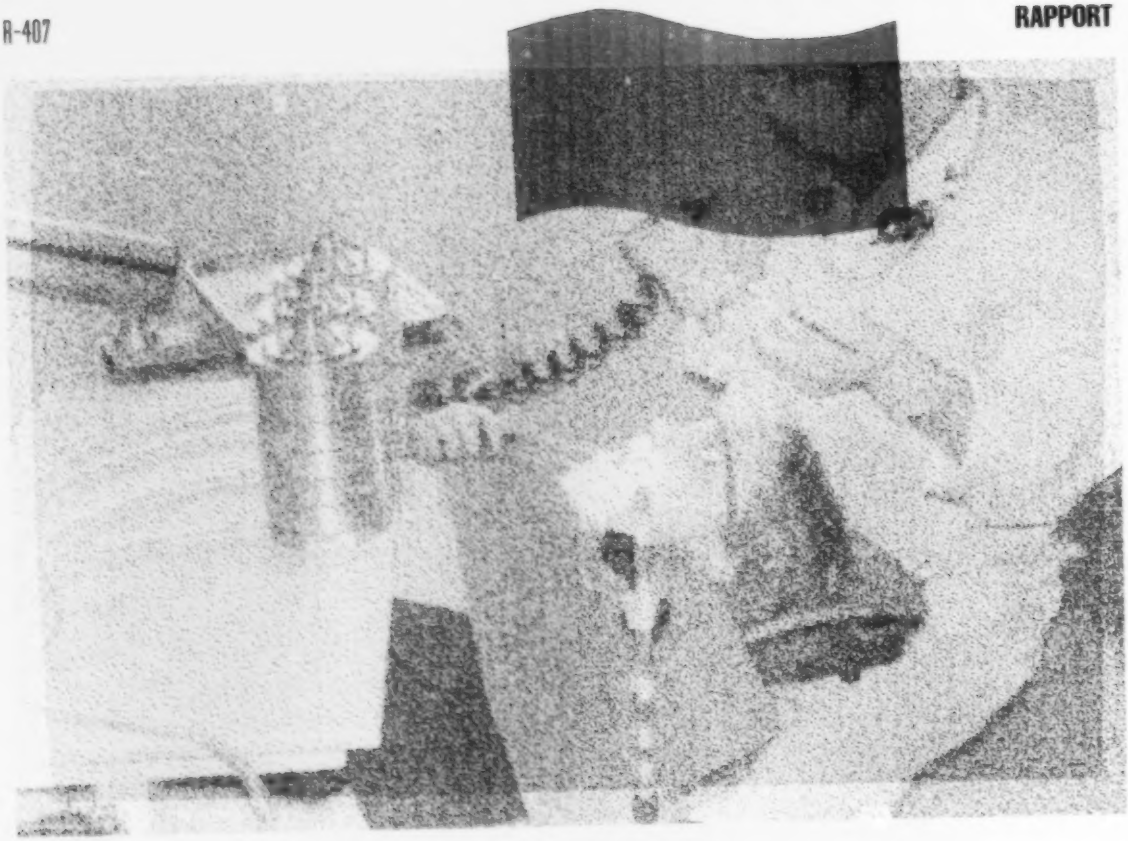


ÉTUDES ET RECHERCHES

Caroline Duchaine
Steve Duhil
Anne Mériaux
Marie-Chantale de Latrémoille
Annie Leduc
Louis Lazure
Jean Barbeau

R-407

RAPPORT



irsst

105-06340/

Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

NOS RECHERCHES
t ravaillent pour vous !

MISSION

- Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes.
- Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.
- Assurer la diffusion des connaissances, jouer un rôle de référence scientifique et d'expert.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission de la santé et de la sécurité du travail.

POUR EN SAVOIR PLUS...

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour. De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement.
www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine *Prévention au travail*, publié conjointement par l'Institut et la CSST.
Abonnement : 1-877-221-7046

Dépôt légal
Bibliothèque nationale du Québec
2005

IRSST - Direction des communications
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : (514) 288-1551
Télécopieur : (514) 288-7636
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, mars 2005

Caractérisation des bioaérosols en cabinets dentaires

ÉTUDES ET RECHERCHES

Caroline Duchaine[1,2], Steve Dutil[1,2], Anne Mériaux[1], Marie-Chantale de Latrémoille[1], Annie Leduc[3], Louis Lazure[4] et Jean Barbeau[3]

[1]Centre de recherche, Hôpital Laval, Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de l'Université Laval
[2]Département de biochimie et de microbiologie, Université Laval
[3]Département de stomatologie, Faculté de médecine dentaire, Université de Montréal
[4]Hygiène du travail, IRSST

RAPPORT

Cliquez recherche
www.irsst.qc.ca

Cette publication est disponible en version PDF sur le site Web de l'IRSST.

Cette étude a été financée par l'IRSST. Les conclusions et recommandations sont celles des auteurs.

CONFORMÉMENT AUX POLITIQUES DE L'IRSST

Les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

Sommaire

Introduction : La présence d'un biofilm dans la tubulure des unités dentaires a souvent été documentée. Ce biofilm assure la croissance et le maintien d'une forte population bactérienne planctonique (environ 1 million de bactéries/ml) incluant plusieurs pathogènes. En cabinet, les instruments de dentisterie tels le pistolet air/eau et le détartreur ultrasonique sont responsables de la génération d'aérosols. Ces aérosols peuvent contenir des bactéries provenant de la bouche des patients mais aussi de l'eau des unités dentaires. Une caractérisation adéquate des bioaérosols générés lors de traitements dentaires permettra d'estimer les risques réels d'infection ou de sensibilisation.

Méthode: L'échantillonnage des bactéries de l'air a été effectué lors de 4 nettoyages dentaires standardisés. L'expérience répétée 13 fois s'est déroulée dans un local isolé dont la ventilation était maintenue à 1,2 changements d'air/heure. Trois types d'échantillonneur d'air ont été utilisés, les impacteurs Andersen, les barboteurs AGI-30 et les cassettes de poussières inhalables IOM. Disposés au niveau de la bouche des patients, les impacteurs Andersen et les barboteurs AGI-30 ont été utilisés pour prélever des échantillons d'air avant les traitements (pour établir le niveau de base), durant 4 traitements dentaires consécutifs et 2 heures après la fin des traitements. Les cassettes de poussières inhalables IOM chargées de membranes noires ont été disposées au niveau de l'hygiéniste, du patient ainsi qu'à l'extérieur de la chambre de traitement (témoin extérieur). La caractérisation des bioaérosols a été faite par culture sur gélose et par microscopie à fluorescence. En parallèle, le diamètre aérodynamique des aérosols totaux générés lors des traitements dentaires a été déterminé.

Résultats: L'analyse des résultats obtenus avec les impacteurs Andersen a démontré une augmentation statistiquement significative de la concentration de bioaérosols lors des traitements dentaires ainsi qu'un retour au niveau de base 2 heures suivant la fin des traitements. L'analyse des résultats obtenus avec les cassettes IOM a démontré que la concentration des bioaérosols est significativement plus élevée au niveau de l'hygiéniste et des patients qu'à l'extérieur du local de traitements ($p < 0,0002$) et que la concentration bactérienne totale peut atteindre 186 000 bactéries/m^3. L'air prélevé par les barboteurs AGI-30 a démontré une augmentation tendancielle de la concentration d'endotoxines lors des traitements dentaires ainsi qu'un retour au niveau de base après 2 heures sans traitement. Le diamètre aérodynamique médian des aérosols dentaires mesurés est de 0,73 µm.

Conclusions: Dans certaines conditions, le personnel dentaire et les patients sont exposés à des bactéries provenant de la bouche des patients et possiblement de l'eau des unités dentaires. Avec une ventilation minimale (1,2 changements d'air/heure), l'arrêt des traitements durant 2 heures apparaît suffisant pour que la concentration de bioaérosols revienne au niveau mesuré avant traitements. L'augmentation tendancielle de la concentration d'endotoxines durant les traitements supporte l'augmentation de la concentration bactérienne observée. L'utilisation de la microscopie à fluorescence au lieu de la culture sur gélose, a permis de mesurer la charge totale de bactéries dans l'air. Le diamètre respirable (<1 µm) des aérosols mesurés lors des traitements dentaires ainsi que l'exposition répétée du personnel, suggère que le risque de contact entre les bactéries aéorosolisées et le système respiratoire des personnes exposées est probable. Une caractérisation ultérieure des pathogènes aérosolisés présentement en cours permettra de mesurer les risques relatifs de sensibilisation et d'infection chez le personnel dentaire. L'efficacité du port du masque comme outil de prévention de l'exposition est aussi à déterminer.

Table des matières

Sommaire ii
1. Introduction 1
1.1 Problématique de santé reliée aux bioaérosols 1
1.2 Aérosols dentaires 1
1.3 Pertinence économique et sociale 2
1.4 État des connaissances scientifiques ou techniques 3
1.5 Limites des études précédentes et solutions proposées 3
1.6 Nouvelles approches pour l'analyse des bioaérosols dentaires 4
2. Objectifs et hypothèses de recherche 5
2.1 Hypothèses de recherche 5
2.2 Objectifs de recherche 5
3. Matériel et méthodes 6
3.1 Échantillonnage 6
3.1.1 Échantillonnage de l'air 6
3.1.2 Échantillonnage de l'eau de l'unité dentaire 10
3.1.3 Échantillonnage de la salive des patients 10
3.1.4 Hygiène dentaire des patients 10
3.1.5 Prélèvement du 14^{e} échantillonnage : modulation de la ventilation 11
3.2 Traitement des échantillons 11
3.2.1 Caractérisation des échantillons par culture sur gélose 11
3.2.2 Caractérisation des échantillons par microscopie à fluorescence (MF) 12
3.2.3 Caractérisation des échantillons par cytométrie en flux (CMF) 14
3.2.4 Dosage des endotoxines 15
3.2.5 Caractérisation des aérosols totaux générés lors des traitements dentaires 15
3.2.6 Évaluation des habitudes quotidiennes d'hygiène dentaire des patients 15
3.2.7 Analyses statistiques 16
4. Résultats 17
4.1 Bioaérosols dentaires 17
4.1.1 Caractérisation des bioaérosols dentaires par culture sur gélose 17
4.1.2 Caractérisation des bioaérosols dentaires par microscopie à fluorescence : comptes totaux 18
4.1.3 Caractérisation des bioaérosols dentaires : dosage des endotoxines 20
4.1.4 Caractérisation des aérosols totaux générés lors des traitements dentaires 21
4.1.5 Température et humidité du local de traitements 23
4.1.6 Caractérisation du 14^{e} échantillonnage : modulation de la ventilation 23
4.2 Sources des bioaérosols dentaires 25
4.2.1 Caractérisation de la cohorte de patients et de leurs habitudes d'hygiène dentaire 25
4.2.2 Caractérisation de la salive des patients 26
4.2.3 Caractérisation de l'eau de l'unité dentaire 27
4.3 Synthèse de la caractérisation des bioaérosols dentaires 31
5. Discussion 32
5.1 Bioaérosols dentaires 32
5.2 Sources des bioaérosols et comparaison des méthodes d'analyses 33
5.3 Perspectives 35

6. Conclusions 37
7. Remerciements 38
8. Références 39
9. Annexes 43
Annexe 1 43
Annexe 2 46

1. Introduction

1.1 Problématique de santé reliée aux bioaérosols

Les bioaérosols sont définis comme étant une suspension dans un milieu gazeux de particules biologiques[28]. Les bactéries, les virus, les champignons, les moisissures, les protozoaires ainsi que leurs métabolites (LPS, toxines, etc.) sont les principaux constituants des bioaérosols[34]. En raison de plusieurs facteurs, tels que la nature et le diamètre aérodynamique des bioaérosols, ces derniers peuvent potentiellement agir comme agents sensibilisants chez les hôtes susceptibles. Bien que les mécanismes de défense des voies respiratoires supérieures parviennent à éliminer les particules au diamètre aérodynamique plus grand, les petits aérosols (< 5 µm) peuvent atteindre l'arbre respiratoire et causer des infections ou des sensibilisations: l'asthme, la rhinite, la pneumonie d'hypersensibilité (ou alvéolite allergique), le syndrome toxique d'exposition aux poussières organiques (STEPO) etc[34]. De plus, des problèmes plus insidieux peuvent apparaître: congestion nasale, irritation oculaire, maux de gorge, maux de tête, fatigue et malaises variés[34]. Un autre facteur participant au développement d'affections respiratoires est la durée d'exposition aux bioaérosols. En règle générale, plus l'exposition aux bioaérosols est soutenue, plus le risque de développer des affections respiratoires est accru, fait troublant pour le personnel dentaire qui est exposé de façon chronique aux bioaérosols.

Depuis plusieurs années, notre groupe s'intéresse aux mesures d'exposition dans différents milieux de travail ainsi qu'aux effets des bioaérosols sur la santé respiratoire humaine. Nous avons étudié les bioaérosols dans plusieurs environnements où la santé des personnes exposées (travailleurs ou milieu domestique) peut être affectée[12,13,16-18,20].

1.2 Aérosols dentaires

L'air des cabinets dentaires est contaminé par plusieurs microorganismes auxquels les travailleurs sont potentiellement exposés[9,35,36]. L'utilisation d'instruments à haute vitesse (seringue à air/eau, détartreur ultrasonique) au cours des traitements en cabinet génère des aérosols. Ces particules en suspension contiennent des bactéries provenant de la bouche des patients traités et possiblement des systèmes d'eau[7,8,32]. En raison de la forte concentration de microorganismes buccaux (environ 10^7-10^8 UFC/ml dans la salive, UFC = unité formatrice de colonie) la littérature actuelle a étudié essentiellement les bioaérosols dentaires d'origine buccale. Par ailleurs, la présence d'un biofilm[3,4,43,50] et, par le fait même, la forte contamination microbienne de l'eau des unités dentaires[15,39] pourrait faire de l'eau des unités une source importante de bioaérosols.

Les bactéries dans un environnement aquatique naturel ont besoin d'interagir avec une surface pour leur survie. La formation d'un biofilm est la stratégie universelle utilisée par les bactéries pour assurer leur croissance (protection contre les éléments extérieurs, apport en nutriments, etc.)[8,14]. Une fois mature, le biofilm montre une résistance accrue aux surfactants, aux biocides et aux antibiotiques[8]. Parmi plusieurs autres, la mince tubulure, la stagnation de l'eau, le faible taux de chlore résiduel et la température adéquate, sont des facteurs qui favorisent la formation d'un biofilm dans l'eau des unités dentaires[37]. Barbeau *et al.* ont démontré à plusieurs reprises la présence d'un important biofilm dans la tubulure des unités dentaires[6,7]. Outre *Sphingomonas paucimobilis* que l'on y retrouve en grande proportion[8], l'eau des cabinets

dentaires est la source de plusieurs pathogènes et pathogènes opportunistes, tels que *Legionella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* et *Mycobacterium* spp.[48,51]. *P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste que l'on retrouve dans 15 à 24% des échantillons d'eau d'unités dentaires; les concentrations de ce microorganisme peuvent atteindre $2x10^5$ UFC/ml et il peut représenter de 75 à 100% de la flore cultivée dans ces unités[6]. Les microorganismes du genre *Legionella* se retrouvent régulièrement dans les conduites des unités dentaires où ils peuvent atteindre des concentrations de 10^2 à 10^4 UFC/ml[2,3]. La forte prévalence de ces microorganismes pourrait être attribuable à la présence dans les conduites d'amibes libres, comme *Naegleria* spp. et *Acanthamoeba* spp.[5], qui sont des hôtes importants pour *Legionella pneumophila* et d'autres bactéries pathogènes[38,49]. Les mycobactéries non tuberculeuses dont *Mycobacterium gordonae* et *Mycobacterium chelonae*, atteignent dans l'eau des unités dentaires des concentrations 400 fois supérieures à celles observées dans l'eau du robinet[6]. De plus, plusieurs études démontrent que la majorité des bactéries environnementales retrouvées ont un diamètre respirable[47] inférieur à 0,3µm[11,33]. Bien que la production de bioaérosols en cabinet dentaire soit probablement moins élevée que la concentration de bioaérosols retrouvés dans d'autres types d'environnements (porcheries, scieries)[19], la nature pathogène et immunogène de ces derniers peut augmenter les risques d'infection ou de sensibilisation. En effet, il a été démontré que la flore nasale est altérée chez 50% du personnel dentaire et que *P. aeruginosa* y est parfois détecté[10]. De plus, la prévalence de séropositivité aux *Legionella* spp. est de 2 à 7 fois supérieure chez le personnel dentaire (16-50%) que dans la population en général (5-8%)[45]. La branche dentaire du National Institute of Health a tenu une journée scientifique sur la question des risques infectieux associés aux pathogènes des conduites d'eau dentaires. Lors de cette rencontre, les discussions ont clairement démontré que les travailleurs de la santé dentaire sont exposés de façon chronique et possiblement de façon cumulative aux pathogènes respiratoires présents dans l'eau. Les effets pour la santé des travailleurs peuvent se faire sentir à long terme.

1.3 Pertinence économique et sociale

Au Québec, la CSST a versé des indemnisations de 2 628 619$ en compensation pour des problèmes directement reliés aux maladies infectieuses pendant les années 1981-1984 ce qui représente des pertes de 24 811 jours de travail. Le secteur médical (dentaire inclus) et des services sociaux contribuent pour environ 25% de ces coûts et pertes. Ces chiffres sous-estiment vraisemblablement le nombre réel de cas d'infections et de sensibilisation susceptibles d'être rapporté à la CSST et ne tiennent pas compte des coûts pour le système de santé. De façon plus spécifique de 1999 à 2003 la CSST a encouru des déboursés de 176 296$ pour 17 cas indemnisés pour problèmes respiratoires chez des travailleurs de cabinets dentaires (Base de donnée de l'Infocentre de la CSST).

Avec le plus grand éveil de la population face aux risques d'infection et en tenant compte de la médiatisation de cas isolés ou épisodiques il est logique de croire que le nombre de cas rapportés annuellement accusera une hausse. Or, les risques d'infection et de sensibilisation reliés à l'aérosolisation de particules biologiques peuvent être prévenus ou à tout le moins réduits. Toutefois, la méconnaissance du phénomène en milieu dentaire est patente, ce qui crée un obstacle important à l'application des règles élémentaires de contrôle de l'infection et de l'exposition. Une caractérisation adéquate des bioaérosols dentaires est donc essentielle afin de documenter le risque d'infection ou de sensibilisation lié à leur exposition.

1.4 État des connaissances scientifiques ou techniques

Depuis quelques années, les scientifiques s'intéressent au problème de bioaérosols en cabinet dentaire dans une optique de contrôle de l'infection. Parmi les études effectuées, nombreuses se sont intéressées à l'exposition aux streptocoques buccaux[21,26,40] et plusieurs études ont utilisé des méthodes non-quantitatives d'échantillonnage (sédimentation sur pétri ouvert)[41,42] ou des méthodes de filtration[21,23]. Une étude effectuée au Québec en 1995 a démontré une augmentation des niveaux de bactéries cultivées sur gélose-sang lors des traitements en cabinet dentaire[25].

Puisque la culture a toujours été la méthode traditionnelle d'analyse des microorganismes, toutes ces études ont utilisé une ou quelques conditions de culture et ont mis l'emphase principalement sur les bactéries aéroportées d'origine buccale. Certaines de ces études ont démontré une contamination significativement plus élevée lors des traitements avec des instruments à haute vitesse[21,25]. D'autres études ont observé des augmentations moins importantes du fardeau microbien lors de tels traitements[26]. Les méthodes de culture utilisées dans toutes les études mentionnées sous-estiment de beaucoup la charge microbiologique effective des aérosols car elles ne tiennent pas compte 1) des bactéries viables mais non cultivables; 2) des bactéries mortes mais dont les constituants peuvent être sources de toxines, d'allergènes ou de substances irritantes; 3) de certains pathogènes fastidieux et 4) des protozoaires. Par ailleurs, dans le cas des cabinets dentaires, la production de bioaérosols par l'utilisation d'instruments à haute vitesse est un traitement très « stressant » pour les bactéries ayant pour conséquence un recouvrement moindre par culture sur gélose[22].

Il est essentiel d'utiliser des méthodes non reliées à la culture telles la microscopie à fluorescence, la cytométrie en flux et la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) afin d'avoir une image plus juste de la concentration de bioaérosols présents et de détecter la présence de pathogènes ou d'allergènes d'intérêts. L'utilisation de ces méthodes d'analyse va permettre d'augmenter d'une façon inestimable les connaissances reliées aux dangers d'affections respiratoires (infections, allergies) relié aux bioaérosols en cabinet dentaire[22].

1.5 Limites des études précédentes et solutions proposées

Les études précédentes ont utilisé des approches classiques de culture sur gélose pour l'analyse des aérosols dentaires (sous-estimation des taux réels). Les méthodes utilisées dans ce projet permettront de mieux quantifier les bioaérosols dentaires (microscopie à fluorescence, cytométrie en flux).

De plus, la caractérisation des pathogènes respiratoires provenant de l'eau dans les échantillons d'air n'a pas été démontrée par la littérature actuelle. Dans la présente étude, outre les bactéries d'origine buccale, les pathogènes connus comme pouvant être présents dans l'eau des unités seront recherchés.

Finalement, les études précédentes n'ont jamais documenté la variation dans le temps des aérosols dentaires par des méthodes permettant un décompte plus sensible. Cette étude permettra de mesurer la concentration des bioaérosols à différents endroits stratégiques (à proximité de l'hygiéniste et des patients) et d'estimer la variation dans le temps des bioaérosols à l'aide de méthodes plus précises.

1.6 Nouvelles approches pour l'analyse des bioaérosols dentaires

La microscopie à fluorescence (MF) est un outil essentiel aux études de microbiologie. Cette méthode permet d'effectuer un compte cellulaire total de divers échantillons et permet l'analyse de plusieurs critères bactériens. En effet, de nombreux colorants fluorescents furent développés afin d'analyser la viabilité cellulaire, les taux de respiration, l'ARN (acide ribonucléique) messager, la nature simple/double brin de l'ADN (acide desoxyribonucléique) etc. Ces nombreuses stratégies expérimentales peuvent être effectuées relativement rapidement et fournissent des informations essentielles et ce, sans avoir à cultiver les bactéries.

La cytométrie en flux (CMF) est une technique qui permet l'analyse d'un grand nombre de cellules (évènements) en un très court laps de temps. Contrairement à la MF, la CMF ne nécessite donc pas d'observation directe mais, un décompte automatisé des cellules présentes. De la même façon que la MF, la CMF implique l'utilisation de colorations fluorescentes. L'ensemble des stratégies utilisées en MF peut être transposé à l'analyse en cytométrie. Afin d'analyser les échantillons environnementaux à l'aide de la MF et de la CMF, il est possible d'effectuer des marquages beaucoup plus spécifiques de certaines cellules présentes dans l'échantillon afin de détecter la présence de certaines bactéries d'intérêt.

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est une méthode très sensible, rapide et qui permet la détection de très faibles quantités d'ADN d'intérêt dans un échantillon par amplification de séquence cible. La PCR peut aussi être quantitatif ou impliquer la détection de plusieurs espèces simultanément.

Tableau 1 : Résumé des différentes méthodes d'analyse des microorganismes utilisées

Méthodes d'analyse	Utilité	Avantages	Inconvénients	Temps requis
Culture	Quantification des unités cultivables	Permet d'isoler certaines espèces et de les cultiver	Long, fastidieux, sous-estimation des comptes réels	2 à 60 jours
Microscopie à fluorescence (MF)	Quantification totale des cellules et détermination de leur viabilité	Permet décompte direct rapide des cellules	Ne permet pas de déterminer les espèces, nécessite un microscope à fluorescence, mise au point difficile	4 heures
Cytométrie en flux (CMF)	Quantification totale des cellules	Permet décompte direct rapide des cellules	Ne permet pas de déterminer les espèces, nécessite un cytomète en flux, mise au point difficile	2 heures
PCR	Détection et quantification de certaine espèces ciblées	Détection très sensible, rapide	Mise au point fastidieuse	4 heures

2. Objectifs et hypothèses de recherche

2.1 Hypothèses de recherche

- Les traitements de dentisterie génèrent des bioaérosols respirables provenant de la bouche des patients et de l'eau des unités dentaires.

2.2 Objectifs de recherche

1. Caractériser la génération de bioaérosols bactériens dans le temps.
2. Doser la concentration d'endotoxines dans le temps.
3. Déterminer les caractéristiques physiques des aérosols générés dans le temps.
4. Caractériser les 2 sources de bioaérosols, soit l'eau de l'unité dentaire et la salive du patient.
5. Utiliser et comparer différentes méthodes d'analyse (MF, CMF, culture sur gélose) pour la caractérisation de l'eau, la salive et les bioaérosols dentaires.
6. Comparer l'analyse microbiologique de l'air avec celle de l'eau de l'unité dentaire et de la salive du patient.
7. Vérifier l'impact des paramètres de ventilation sur les mesures de l'objectif 1 à 3.

3. Matériel et méthodes

3.1 Échantillonnage

3.1.1 Échantillonnage de l'air

(a) Choix du cabinet dentaire. La chambre de traitement utilisée est le local 1787 du pavillon de médecine dentaire de l'Université Laval (GREB) (Figure 1). Ce local est utilisé de façon occasionnelle par les membres du GREB et l'accès nous a été rendu possible par la participation du Dr Daniel Grenier, directeur du GREB. Il s'agit d'un local isolé dont les paramètres de ventilation et d'utilisation sont contrôlables. Ce cabinet dentaire était desservi par un système de ventilation qui présente les caractéristiques physiques et aérauliques suivantes:

- Système conventionnel à zone simple avec alimentation, évacuation et sans recyclage de l'air (100% air neuf).
- Possibilité de moduler les débits d'air de manière à évaluer l'incidence de la variation de ce paramètre sur la concentration ambiante des aérosols.

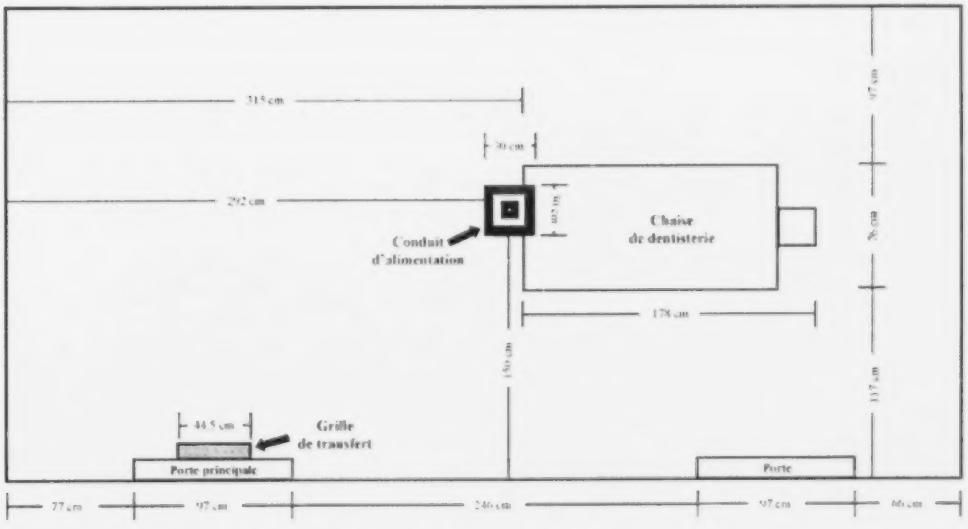


Figure 1 : Schéma du local de traitements et de son système de ventilation

(b) Paramètres de ventilation. L'ajustement du débit d'air a été possible grâce à l'expertise de Louis Lazure et de Yves Beaudet de l'IRSST. Le maintien constant d'un taux de renouvellement d'air de 1,2 changements d'air neuf à l'heure (cah) est obtenu en contrôlant les paramètres suivants : (1) le volet d'équilibrage de débit du conduit d'alimentation est maintenu en position d'ouverture minimale, (2) le diffuseur d'alimentation est recouvert complètement ainsi que la grille de transfert sur la porte d'accès au local (porte principale) et, (3) les 2 portes de la chambre de traitement sont maintenues fermées. Les déplacements dans le local de traitement sont minimisés lors du prélèvement d'échantillons d'air. La mesure du taux de renouvellement d'air

horaire a été effectuée par traçage en suivant la méthodologie énoncée dans la norme *ASTM E 741–93* (Standard Test Methods for Determining Air Change in a Single Zone by Means of a Tracer Gas Dilution). La méthode consiste à introduire une quantité prédéterminée de gaz traceur dans la pièce et de mesurer, après dispersion uniforme dans le local, la décroissance de la concentration sur une période prolongée. Lors de l'étude, le gaz traceur utilisé était l'hexafluorure de soufre (SF_6). Les mesures des concentrations de traceur ont été effectuées *in situ* à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons de marque Lagus (modèle Autotrac) offrant une précision de ±4,5% sur l'échelle dynamique. Pour les essais nécessitant un taux de renouvellement d'air supérieur, soit 2,8 cah (voir section 3.1.5), la surface du diffuseur a été dégagée de 20% et le débit minimal d'alimentation réglé à 85 m^3/heure. Les mesures de débit ont été effectuées à l'aide d'un balomètre de marque ALNOR (modèle APM 150).

(c) Recrutement des volontaires. Cinquante-deux patients ont été recrutés grâce à des notes affichées au Centre de recherche de l'Hôpital Laval. En raison du prélèvement de salive requis, chacun des volontaires devait signer un formulaire de consentement approuvé par le comité d'éthique de l'Hôpital Laval (Annexe 1). L'admissibilité des volontaires était confirmée suite à un pré-examen effectué par un dentiste. L'hygiène buccale et la santé dentaire étaient évaluées. Les patients retenus ne devaient pas démontrer de signes de pathologie buccale.

(d) Le traitement dentaire. Un nettoyage de la bouche des patients a été effectué de manière standardisée par une hygiéniste professionnelle. Brièvement, la bouche du patient était nettoyée à raison de 7 minutes par quart de bouche en utilisant un détartreur ultrasonique de marque Cavitron (Star Dentalez, AL, USA). L'hygiéniste a toujours commencé par le quadrant inférieur droit de la bouche, suivi du quadrant supérieur droit, inférieur gauche et pour finir, avec le quadrant supérieur gauche. L'utilisation du détartreur ultrasonique était nécessaire puisque cet instrument met à contribution l'eau des unités dentaires et est en mesure d'aérosoliser en même temps les bactéries de la bouche des patients. Lors des traitements dentaires, l'hygiéniste a utilisé un masque « Technol Lite One » de Kimberley-Clark (Médiselect, Québec, PQ, Canada).

(e) Protocole d'échantillonnage. Une journée d'échantillonnage s'étendait sur une période de 8 heures au cours desquelles 4 nettoyages dentaires consécutifs avaient lieu. Chaque journée d'échantillonnage a été répétée 13 fois, pour un total de 52 patients. Les 13 échantillonnages se sont déroulés toutes les 2 semaines et se sont étendus sur une période de 7 mois. Pour satisfaire la règle de 2 jours sans activité (traitements dentaires), pour un niveau de base idéal, les échantillonnages ont toujours eu lieu un mardi. Six prélèvements d'air ont été effectués durant une journée d'échantillonnage. Un premier échantillon était prélevé 2 heures avant le début du 1er traitement pour déterminer le niveau de base. Par la suite un échantillon fut prélevé durant chacun des 4 traitements dentaires (un traitement de 30 à 45 minutes toutes les heures). Finalement un dernier échantillon était prélevé 2 heures suivant la fin du 4^{e} traitement dentaire. La température ainsi que le pourcentage d'humidité relative de la pièce ont été mesurés lors des six échantillons d'air mentionnés précédemment à l'aide du thermomètre Psychro-dyne (Industrial instruments and supplies, PA, USA).

(f) Échantillonneurs utilisés. Trois méthodes complémentaires de collection des bioaérosols ont été utilisées: i) les barboteurs AGI-30 (Ace Glass Inc., Vineland, NJ, USA); ii) les impacteurs

Andersen 6 étages (AMS) (Graseby, Atlanta, GA, USA); et iii) les cassettes de poussières inhalables (IOM) (SKC, Eighty Four, PA, USA). La détermination de la zone de projection des aérosols a été établie à l'aide de l'« Aerodynamic Particle Sizer » (APS) (TSI, St-Paul, MN, USA) et a permis de déterminer l'emplacement des impacteurs Andersen et barboteurs AGI-30. Pour éviter le biais de toujours recueillir les projections provenant de la même ½ bouche avec le même type échantillonneur, les impacteurs Andersen et barboteurs AGI-30 ont été intervertis entre chacun des patients (Figure 2).

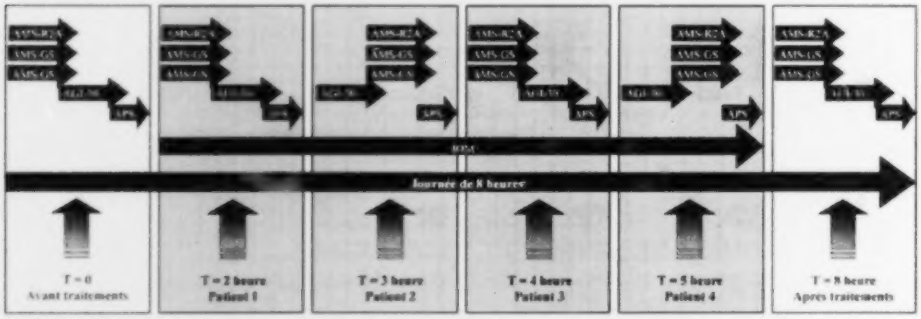


Figure 2 : Schéma chronologique du prélèvement de l'air lors d'une journée d'échantillonnage

(i) Barboteurs AGI-30. Les barboteurs AGI-30 sont des échantillonneurs permettant l'impaction de l'air dans un liquide et donc, le traitement des échantillons d'air comme s'il s'agissait d'échantillons d'eau. De par leur conception, les barboteurs permettent de récupérer efficacement les aérosols dont le diamètre est compris entre 0,3 µm et 15 µm. Deux barboteurs AGI-30 contenant 20 ml d'une solution saline stérile pré-filtrée (0,22 µm) étaient disposés près de la bouche du patient et utilisés en série avec les autres échantillonneurs (Figure 3). Tel que mentionné précédemment, six échantillons d'air étaient prélevés, soit un 2 heures avant le premier traitement, 1 échantillon pour chacun des 4 traitements dentaires et un 2 heures suivant la fin du dernier traitement (Figure 2). Un débit de 12,5 Lpm pendant 16 minutes contrôlé avec un débitmètre (BiosInternational Corporation, Pompton Plains, NJ, USA) a été appliqué et a permis de récolter 400 L d'air (2x200 L). Les liquides de barboteur pour un même temps ont été combinés et le volume a été complété à 50 ml avec de l'eau physiologique stérile pré-filtrée. Le volume final a ensuite été aliquoté (Tableau 2). Le volume restant a été congelé à -20°C. Les liquides de barboteurs (échantillons) ont été utilisés pour la quantification bactérienne par MF et le dosage des endotoxines.

Tableau 2: Distribution des échantillons d'air récoltés par AGI-30

Volume d'échantillon disponible : 50ml

Méthodes d'analyses	Volume total (ml)	Commentaires
MF (viabilité)	2x15 ml = 30 ml	Échantillons non fixés
PCR	2x8 ml	Échantillons congelés, non fixés
Endotoxines	3x1 ml = 3 ml	Échantillons congelés, non fixés
Restant	1 ml	Échantillons congelés, non fixés

Andersen 6 étages (AMS) (Graseby, Atlanta, GA, USA); et iii) les cassettes de poussières inhalables (IOM) (SKC, Eighty Four, PA, USA). La détermination de la zone de projection des aérosols a été établie à l'aide de l'« Aerodynamic Particle Sizer » (APS) (TSI, St-Paul, MN, USA) et a permis de déterminer l'emplacement des impacteurs Andersen et barboteurs AGI-30. Pour éviter le biais de toujours recueillir les projections provenant de la même ½ bouche avec le même type échantillonneur, les impacteurs Andersen et barboteurs AGI-30 ont été intervertis entre chacun des patients (Figure 2).

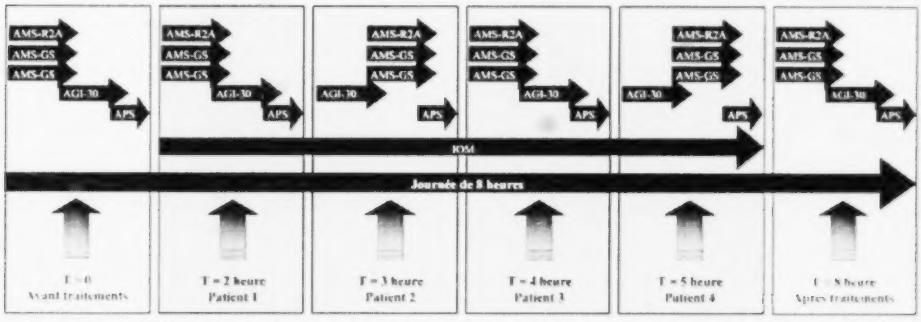


Figure 2 : Schéma chronologique du prélèvement de l'air lors d'une journée d'échantillonnage

(i) Barboteurs AGI-30. Les barboteurs AGI-30 sont des échantillonneurs permettant l'impaction de l'air dans un liquide et donc, le traitement des échantillons d'air comme s'il s'agissait d'échantillons d'eau. De par leur conception, les barboteurs permettent de récupérer efficacement les aérosols dont le diamètre est compris entre 0,3 µm et 15 µm. Deux barboteurs AGI-30 contenant 20 ml d'une solution saline stérile pré-filtrée (0,22 µm) étaient disposés près de la bouche du patient et utilisés en série avec les autres échantillonneurs (Figure 3). Tel que mentionné précédemment, six échantillons d'air étaient prélevés, soit un 2 heures avant le premier traitement, 1 échantillon pour chacun des 4 traitements dentaires et un 2 heures suivant la fin du dernier traitement (Figure 2). Un débit de 12,5 Lpm pendant 16 minutes contrôlé avec un débitmètre (BiosInternational Corporation, Pompton Plains, NJ, USA) a été appliqué et a permis de récolter 400 L d'air (2x200 L). Les liquides de barboteur pour un même temps ont été combinés et le volume a été complété à 50 ml avec de l'eau physiologique stérile pré-filtrée. Le volume final a ensuite été aliquoté (Tableau 2). Le volume restant a été congelé à -20°C. Les liquides de barboteurs (échantillons) ont été utilisés pour la quantification bactérienne par MF et le dosage des endotoxines.

Tableau 2: Distribution des échantillons d'air récoltés par AGI-30

Volume d'échantillon disponible : 50ml

Méthodes d'analyses	Volume total (ml)	Commentaires
MF (viabilité)	2x15 ml = 30 ml	Échantillons non fixés
PCR	2x8 ml	Échantillons congelés, non fixés
Endotoxines	3x1 ml = 3 ml	Échantillons congelés, non fixés
Restant	1 ml	Échantillons congelés, non fixés

(ii) Impacteurs Andersen 6-étages (AMS). Les « Andersen microbial sampler » ou AMS permettent d'impacter l'air directement sur milieux de culture gélosé et de récupérer essentiellement les bioaérosols dont le diamètre est inférieur à 7 µm. Ils ne nécessitent pas de dilution et sont utilisés lorsque les concentrations de bioaérosols sont relativement faibles. Trois AMS placés en parallèle ont été disposés à la même position que les barboteurs AGI-30 (Figure 3). Les mêmes six échantillons d'air ont été prélevés (Figure 2). L'échantillonnage a duré 15 minutes et le débit était ajusté a 28,3 Lpm à l'aide d'un débitmètre (BiosInternational Corporation, Pompton Plains, NJ, USA) pour récolter 425 L d'air. Un des impacteurs Andersen était chargé avec le milieu R2A et les 2 autres avec des géloses sang (incubation avec ou sans présence d'oxygène) (Tableau 5). Les échantillons d'air recueillis par AMS ont été l'analysés par culture sur gélose uniquement.

(iii) Cassettes de poussières inhalables (IOM). Les IOM (Institut of Occupational Medicine) permettent d'impacter l'air directement sur un filtre et ainsi récupérer efficacement les aérosols inférieurs à 100 µm. Deux IOM en parallèle étaient disposés au niveau de l'hygiéniste, du patient, dans un local extérieur et sur le mur sans pompe (témoin négatif). L'échantillonnage des IOM a été fait en continu pendant 4 heures, soit durant les 4 traitements dentaires, à un débit de 2,0 Lpm, pour récolter 480 L d'air (Figure 2). Pour chacun des 4 sites d'échantillonnage nous avons utilisé une membrane de polycarbonate noire de porosité de 0,8 µm, pour l'analyse en MF et une membrane de gélatine pour la détection et quantification ultérieure par PCR.

(iv) APS. La détermination de la zone de projection des aérosols a été mesurée lors du premier patient (1^{ere} journée d'échantillonnage). Par la suite, l'APS a été utilisé en série à la même position que les barboteurs AGI-30 et les AMS (Figure 2 et 3). Un échantillon de 2x1 minute d'air est récolté pour chacun des six prélèvements (voir barboteur AGI-30). Un débit de 1 Lpm nous permet de récolter un volume d'air de 2x1 L. Seule la première minute d'échantillonnage a été utilisée pour l'analyse des résultats.

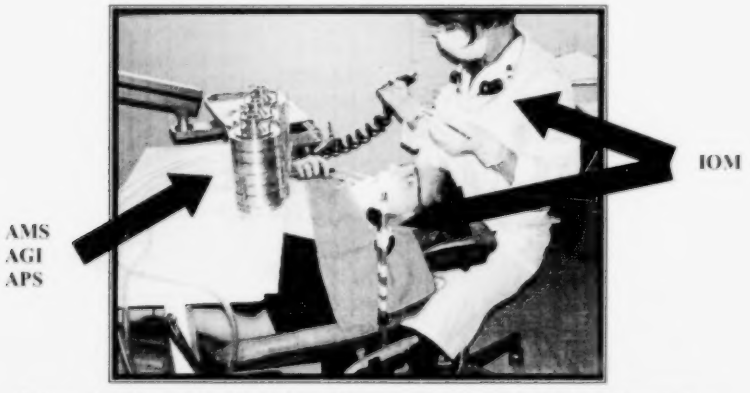


Figure 3 : Disposition des échantillonneurs d'air lors de l'échantillonnage

3.1.2 Échantillonnage de l'eau de l'unité dentaire

A partir du pistolet air/eau de l'unité dentaire, trois échantillons d'eau de 240 ml ont été prélevés dans le temps : 1) drainage des conduites (purge), 2) post-drainage des conduites (après purge), et 3) post-traitements. Puisque le débit du pistolet air/eau est de 2 ml/seconde, le volume requis est prélevé en 2 minutes. Un 4^{e} échantillon d'eau de 240 ml correspond à l'eau du réseau d'aqueduc de la ville. L'eau a été analysée par MF, par CMF, par culture sur gélose. Le volume d'eau utilisé pour chacune des analyses est résumé au tableau 3.

Tableau 3: Distribution des échantillons d'eau récoltés

Volume d'échantillon disponible : 240ml

Méthodes d'analyses	Volume total (ml)	Commentaires
Culture: étalement	50 ml	Échantillons non fixés
Culture: filtration	100 ml + 50 ml = 150 ml	Échantillons non fixés
MF (viabilité)	17 ml	Échantillons non fixés
PCR	2 X 5 ml = 10 ml	Échantillons congelés, non fixés
Endotoxines	3x1 ml = 3 ml	Échantillons congelés, non fixés
CMF	10 ml	Échantillons congelés, fixés*

*Fixation formaldheyde

3.1.3 Échantillonnage de la salive des patients

Pour chacun des patients, de 3 à 5 ml de salive ont été recueillis dans un tube stérile de 50 ml. La salivation n'a pas été stimulée, induite ou provoquée. L'analyse des échantillons a été faite par culture sur gélose sang (aérobie) et par MF. Le volume de salive utilisé pour chaque analyse est résumé au tableau 4.

Tableau 4: Distribution des échantillons de salive récoltés

Volume d'échantillon disponible : 5ml

Méthodes d'analyses	Volume total (ml)	Commentaires
Culture: étalement	3 ml	Échantillons non fixés
MF	2 ml	Échantillons fixés*

*Fixation formaldheyde

3.1.4 Hygiène dentaire des patients

Tel que présenté à l'annexe 2, un questionnaire rempli par chacun des patients nous a renseignés sur leurs habitudes quotidiennes d'hygiène dentaire. De plus, nous avons demandé à nos patients de décrire leurs activités en lien avec leur hygiène dentaire dans les 4 heures avant le nettoyage.

3.1.5 Prélèvement du 14^{e} échantillonnage : modulation de la ventilation

Un 14^{e} échantillonnage de l'air a été effectué près d'un an après le 13^{e} échantillonnage. La variable de ce 14^{e} prélèvement est la modulation du taux de changement d'air à l'heure qui était désormais ajusté à 2.8. L'ensemble des échantillonneurs d'air présentés plus haut ont été utilisés (AMS, AGI-30, IOM et APS). Par contre, aucun échantillon d'eau et de salive n'a été prélevé. Les échantillons d'air ont été analysés par culture sur gélose (AMS) et par MF (AGI-30 et IOM). Seule la concentration bactérienne a été déterminée.

3.2 Traitement des échantillons

Selon les contraintes du protocole et les standards d'analyse microbiologiques[11,46], l'ensemble des échantillons d'air, d'eau et de salive ont été analysés dans les 3 jours suivant la récolte. Avant l'analyse les échantillons sont conservés à 4°C en tout temps.

3.2.1 Caractérisation des échantillons par culture sur gélose

La culture sur gélose a été utilisée pour la quantification bactérienne (unités formant des colonies : UFC) des échantillons d'air, d'eau et de salive mais aussi pour la détection et la quantification de certains pathogènes présents dans l'eau des unités dentaires, soient les légionelles et les mycobactéries.

(a) Échantillons d'air. Un essai préalable nous a démontré que les échantillons d'air récupéré par les barboteurs AGI-30 ne sont pas suffisamment concentrés pour obtenir une quantification bactérienne adéquate. L'analyse par culture sur gélose des échantillons d'air recueillis par les barboteurs AGI-30 a donc été mise de coté. Tel que mentionné précédemment, pour chacun des prélèvements, trois AMS utilisés en parallèle étaient chargés respectivement avec le milieu R2A (Difco, Sparks, MD, USA) et avec deux séries de milieu gélose sang incubées en présence et en absence d'oxygène (Difco, Sparks, MD, USA). Les géloses ont été conservées à 4°C pendant un maximum de 8 heures avant incubation. Le tableau 5 résume les conditions et temps d'incubation pour les milieux gélosés utilisés. Les colonies obtenues sur gélose sang et R2A ont été quantifiées par la méthode des trous positifs[1]. La limite de détection de cette méthode est de 2 UFC/m^{3}.

Tableau 5 : Caractérisation des étalements sur milieux de culture des échantillons d'air, d'eau et de salive

Milieu	Échantillons analysés	Microorganismes visées	T°	Conditions d'incubation	Temps
R2A	Air et eau	Bactéries aquatiques	25°C	Aérobie	20 jours
GS	Air et eau	Bactéries buccales	35°C	Aérobie	7 jours
	Air		35°C	Anaérobie	7 jours
	Salive		35°C	Aérobie	5 jours
GPV	Eau	Légionelles	35°C	Aérobie + $C0_2$ (2.5%)	14 jours
MBA	Eau	Mycobactéries	30°C	Aérobie + $C0_2$ (2.5%)	30 jours

(b) Échantillon d'eau. Un volume de 200 ml a été utilisé pour l'analyse des échantillons par culture sur gélose. L'analyse a été effectuée dans le laboratoire du Dr Jean Barbeau à la faculté de médecine dentaire de l'université de Montréal. Les échantillons ont été conservés à 4°C au maximum 3 jours avant l'analyse.

(i) Mycobactéries. Un premier volume de 100 ml a été utilisé pour la détection et la quantification des mycobactéries. Suite au prélèvement, l'échantillon d'eau a été incubé pendant 18 heures à température pièce avec une solution de chlorure de cétylpyridinium à 0,004%. L'échantillon a été filtré sur une membrane de cellulose de 47 mm et de 0,22 µm de porosité (Millipore, Bedford, MA, USA), rincé avec 2x100 ml d'eau stérile et déposé sur milieux Middlebrook 7H10 (Difco, Sparks, MD, USA) avec supplément Middlebrook OADC (BBL, Cockeysville, MD, USA) (MBA). Le tout a été incubé à 30°C pendant 30 jours (Tableau 5).

(ii) Légionelles. Un autre volume de 50 ml a été utilisé pour la détection et la quantification des légionelles. L'eau est filtrée sur une membrane de cellulose, rincée avec 2x100 ml d'eau stérile et déposée sur milieux GPV (BCYE (buffered charcoal yeast extract) avec glycine (3mg/ml), vancomycine (5ng/ml) et polymixine B (14ng/ml)). Le tout est incubé à 35°C (2,5% CO_2) pendant 14 jours (Tableau 5).

(iii) Bactéries hétérotrophes. Le volume restant de 50 ml a été utilisé pour la quantification totale des bactéries cultivables. Des dilutions en série ont été faites, jusqu'à dilution 10^{-2} (ou plus au besoin). Un aliquot de 100µl a été déposé sur gélose sang et R2A. Les géloses R2A et sang étaient incubées en aérobiose respectivement à 25°C pendant 20 jours et à 35°C pendant 7 jours (Tableau 5).

Les colonies obtenues à partir des échantillons d'eau (R2A-GS-MBA-GPV) ont été quantifiées. Les colonies obtenues sur MBA ont été soumises à un test de Ziehl-Neelsen afin de déterminer s'il s'agissait de bacilles acido-alcoolo résistants. Ces dernières apparaissent comme de minuscules colonies jaunes. La fluorescence des colonies obtenues sur GPV, leur faible activité catalase, l'oxidase positive, la coloration de Gram négative ainsi qu'un repiquage sur BCYE et gélose sang a permis de determiner les colonies susceptibles d'être des légionelles. Une croissance sur BCYE combinée à une absence de croissance sur gélose sang était la confirmation par culture de la présence de légionelles.

(c) Échantillon de salive. Un volume de 3 ml de salive de chacun des patients était nécessaire pour l'ensemencement et l'analyse de la salive par culture sur gélose (Tableau 4). Les échantillons ont été maintenus à 4°C pendant 24 heures avant étalement. Cinq dilutions en série ont été préparées (10^{-4} à 10^{-8}) et un aliquot de 100 µl a été étalé en triplicata sur gélose sang. Le tout était incubé à 35°C en aérobiose pendant 5 jours (Tableau 5).

3.2.2 Caractérisation des échantillons par microscopie à fluorescence (MF)

La microscopie à fluorescence a été utilisée pour la quantification bactérienne totale des échantillons d'air, d'eau et de salive. Un pourcentage de viabilité basé sur l'intégrité membranaire a été mesuré pour les échantillons d'air et d'eau. Le microscope utilisé pour l'analyse des échantillons est le Nikon Eclipse 6600 (Carsen Group Inc, ON, CA). Vingt champs visuels sont observés aléatoirement (ou 200 cellules). La capture d'image est effectuée grâce à la

caméra « SPOT RT slider, Diagnostic instrument, INC. » (Carsen Group Inc, ON, CA). L'analyse et le traitement des images sont faites avec les logiciels SPOT advance, version 3.1 et Image Proplus, version 4.1.0.0 (Carsen Group Inc, ON, CA). Un contrôle positif et négatif ont été effectués en parallèle.

La formule suivante fut utilisée pour obtenir le nombre de bactéries par millilitre. Au besoin, cette valeur a ensuite été rapportée au m^3.

$$\text{Nombre de bactéries/ml} = \frac{N \times AF \times 1000\mu l}{\text{Nbr de champs} \times AC \times V(\mu l)}$$

Où :
N = Nombre total de bactéries comptées
AF = Aire de filtration : 216,42 mm^2
AC = Aire d'un champ à 100X : 0,009775 mm^2
V = volume d'échantillon testé en µl

(a) Échantillons d'air : AGI. Un volume de 30 ml était utilisé pour l'analyse de l'air par MF (Tableau 2). Les échantillons ont été conservés 36 heures à 4°C avant analyse. La caractérisation est possible suite à l'utilisation de la trousse « LIVE/DEAD® *Bac*Light™ Bacterial Viability Kit » de Molecular Probes (Eugene, OR, USA). Cette trousse comprend deux colorants, l'un pénétrant la totalité des cellules (SYTO® 9) et l'autre ne pénétrant que les cellules perméabilisées (iodure de propidium). A l'aide d'un système de filtration en verre fritté (VWR, Montreal, CA) un volume de 12 ml a été filtré, à pression constante de 10 psi (69 kpa) sur une membrane de polycarbonate de 25 mm et de 0,22 µm de porosité (Millipore, Bedford, MA, USA). L'unité de filtration était lavée avec 1 ml de PBS stérile pré-filtré et la pression sur la membrane était éliminée. Par la suite, 1 ml de la solution de coloration « LIVE/DEAD® » dans un rapport de 3/1 en faveur de l'iodure de propidium (concentration final de SYTO® 9 : 2,5 µM et IP : 45 µM) était ajoutée et le tout était incubé à température pièce pendant 15 minutes dans le noir. La solution de coloration était ensuite filtrée (10 psi) et lavée à 2 reprises avec 1 ml de PBS stérile pré-filtré. La membrane a été montée entre lame et lamelle avec de l'huile de montage et observée au microscope. Chaque échantillon a été fait en duplicata.

(b) Échantillons d'air : IOM. Lors de chaque échantillonnage, 4 membranes de polycarbonate de 25 mm et de 0,8 µm de porosité (Whatman Internatinal Ltd, Maidstone, England) sont obtenues pour la quantification totale et l'analyse de la viabilité par MF. Après échantillonnage, les cassettes étaient conservées à 4°C pendant 4 heures maximum avant analyse. La trousse « LIVE/DEAD® *Bac*Light™ bacterial viability kit » de Molecular Probes a été utilisée. Une membrane de polycarbonate de 25 mm avec une porosité de 0,22 µm est d'abord déposée sur le système de filtration en verre fritté. La membrane de polycarbonnate de 25 mm de 0,8 µm de porosité (échantillons) était ensuite déposée sur le système de filtration. Quelques gouttes de PBS pré-filtré étaient filtrées à une pression de 2 psi (5 kPa) pour humecter les membranes. Suite à l'élimination de la pression sur les membranes, la solution de coloration « LIVE/DEAD® » était ajoutée dans un rapport de 3/1 en faveur de l'iodure de propidium. Le tout était incubé à température pièce pendant 15 minutes dans le noir. Par la suite, le liquide de coloration a été filtré à une pression constante de 5 psi (35 kPa). Les deux membranes étaient lavées à 2 reprises

avec 1 ml de PBS stérile pré-filtré, montées entre lame et lamelle avec de l'huile de montage et observées au microscope à fluorescence.

(c) Échantillons d'eau. Des volumes de 800 µl, 2,5 ml, 7 ml et 7 ml ont été utilisés respectivement pour la quantification des échantillons de l'eau de purge, après purge, après traitements et de l'eau de ville. Les échantillons ont été traités 36 heures après leur récolte. Chacun des échantillons a été fait en triplicata. L'analyse de l'eau a été possible suite à l'utilisation de la trousse « LIVE/DEAD® *Bac*Light™ Bacterial Viability Kit » de Molecular Probes. Le protocole est le même que celui présenté ci-haut pour l'analyse de l'air à partir des barboteurs AGI-30. Par contre, pour les échantillons d'eau de purge, la coloration a été effectuée en liquide puisque le faible volume (800µl) d'échantillon nécessaire le permettait.

(d) Échantillons de salive. Un volume de 2 ml a été conservé pour la caractérisation de la salive par MF. Dans les 36 heures suivant le prélèvement de salive, les échantillons sont fixés à la formaldéhyde 37% (solution résiduelle de 2%) pendant minimum 3 heures et conservé à 4°C pour l'analyse ultérieure. Juste avant l'analyse, les échantillons fixés ont été préalablement soniqués pendant 1 minute et mélangés au vortex par impulsion pendant 10 secondes pour briser les amas. Un volume d'échantillon de 2 µl a été utilisé pour la coloration. La quantification bactérienne totale des échantillons de salive a été effectuée à l'aide d'une solution de coloration au 4',6-diamino-2-phenylindole (DAPI) (Sigma, St. Louis, MO, USA). Ce colorant s'intègre dans l'ADN de toutes les cellules. Brièvement, l'échantillon a été resuspendu dans 850 µl de PBS stérile pré-filtré et 150 µl de la solution de coloration DAPI a ensuite été ajoutée (concentration finale de 15 µM). Le tout a été incubé dans le noir à température pièce pendant au minimum 10 minutes. L'échantillon a ensuite été filtré à pression constante de 10 psi sur une membrane de polycabonnate noire de 25 mm et de 0,22 µm de porosité à l'aide d'un système de filtration en verre fritté. Après avoir lavé (2x1 ml) l'unité de filtration avec du PBS stérile pré-filtré, monté la membrane entre lame et lamelle avec de l'huile de montage, le tout est observé au microscope à fluorescence. Chacun des échantillons a été fait en duplicata.

3.2.3 Caractérisation des échantillons par cytométrie en flux (CMF)

La cytométrie en flux a été utilisée pour mesurer la concentration bactérienne totale dans l'eau des unités dentaires. Les résultats obtenus ont été comparés à la culture sur gélose et à la MF. Le cytomètre en flux utilisé est le Coulter Epics Elite (Beckman-Coulter, Miami, FL, USA) et a permis l'analyse des échantillons en « forward light scatter », « side light scatter » et en fluorescence.

Échantillons d'eau. Dans les 8 heures suivant la récolte, un volume de 10 ml de chacun des 4 échantillons d'eau a été fixé avec de la formaldéhyde 37% (solution résiduelle de 2%) pendant 3 heures et conservé à 4°C jusqu'à l'analyse en cytométrie. Cette dernière a nécessité 1 ml et a été faite en triplicata. La quantification bactérienne totale des échantillons d'eau par CMF est possible grâce à l'utilisation de la trousse « Bacteria Counting Kit » (Molecular Probe, Eugene, OR, USA) qui comprend une suspension de billes de polystyrène de 6 µm de concentration connue et un agent intercalant, le SytoBC. Le ratio billes/cellules compté permet d'évaluer la concentration cellulaire. Les échantillons sont préalablement soniqués pendant 1 minute avant coloration et analyse en cytométrie.

3.2.4 Dosage des endotoxines

La concentration d'endotoxines dans l'eau et l'air a été mesurée par la méthode LAL chromogénique « endpoint » (Associates of Cape Cod, Flamouth, USA). Un test de synergie/inhibition a été effectué de façon aléatoire sur des échantillons pour déterminer la dilution optimale ne démontrant ni inhibition ni synergie lors du dosage. Les endotoxines ont été mesurées à partir du liquide des barboteurs AGI-30. Un volume d'échantillon (air et eau) de 3x1 ml a été conservé à -20° C pour le dosage des endotoxines. Les échantillons ont été mélangés au vortex 10 minutes avant le dosage afin de récupérer les endotoxines liées à la paroi du récipient.

(a) Échantillons d'air. La dilution optimale de ½ a été établie pour l'ensemble les échantillons d'air.

(b) Échantillons d'eau. Une dilution optimale de 1/200, 1/200, 1/100 et 1/10 a été établie pour les échantillons respectifs d'eau de purge, après purge, après traitement et de ville.

3.2.5 Caractérisation des aérosols totaux générés lors des traitements dentaires

L'APS ou « Aerodynamic Particle Sizer » permet l'analyse des aérosols en temps réel. Par contre, il ne fait pas la différence entre une simple poussière et un microorganisme. Il a permis d'obtenir une concentration pour chaque aérosol compris entre 0,5 et 20 µm. L'utilisation de l'APS a permis de déterminer la concentration totale, le diamètre aérodynamique et la concentration massique des aérosols produits lors des traitements dentaires.

3.2.6 Évaluation des habitudes quotidiennes d'hygiène dentaire des patients

Dans le cadre de l'évaluation des habitudes quotidiennes d'hygiène dentaire, une cote nominale a été attribuée pour chaque habitude. Les cotes attribuées sont le reflet des suggestions de l'ordre des dentistes du Québec et sont résumées au tableau 6. Brièvement, une cote de 2 est attribuée aux personnes qui se brossent les dents 2 fois par jour et plus, utilisent la soie dentaire tous les jours ou subissent au moins un nettoyage dentaire par an. Une cote de 0 est attribuée au patients qui utilisent la soie dentaire moins d'une fois semaine, se brossent les dents moins d'une fois par jour et qui n'ont pas subi de nettoyage dentaire depuis au moins 2 ans. Une cote de 1

Tableau 6 : Barème nominal pour l'évaluation des habitudes quotidiennes d'hygiène dentaire des patients

Habitudes d'hygiène dentaire					
Utilisation de la brosse à dents		Utilisation de la soie dentaire		Nettoyage dentaire	
Cote	Signification	Cote	Signification	Cote	Signification
2	Tous les jours	2	Minimum 2 fois par jour	2	Un nettoyage/an et plus
1	1 fois/semaine et plus	1	Minimum 1 fois par jour	1	Un nettoyage/2 ans
0	Moins d'une fois/semaine	0	Moins d'une fois par jour	0	Plus de 2 ans sans nettoyage

représente la médiane de ces deux situations. Finalement si un patient obtient une cote finale de 4 ou plus, il est considéré, selon notre barème, comme ayant une bonne hygiène dentaire.

3.2.7 Analyses statistiques

Les résultats de tendance centrale et de variabilité des différents paramètres des données provenant de l'air, de l'eau et de la salive des patients sont représentés en utilisant les moyennes avec leur écart-type moyen. Par contre, puisque les résultats obtenus à partir des échantillons d'air récupérés par les IOM avaient une distribution asymétrique la présentation des résultats a été donnée par l'approche des médianes. Pour l'ensemble des variables analysées, la journée d'échantillonnage a été considérée comme une variable de blocage (facteur à effet aléatoire). La séquence des mesures prises durant la journée a été analysée comme un facteur à mesures répétées (facteur à effet fixe). C'est ainsi qu'un modèle à effets mixtes (effet aléatoire et effet fixe), sans interaction, a été utilisé pour l'analyse statistique des données. Pour la plupart des variables à l'étude une transformation logarithmique leur était nécessaire afin d'avoir une distribution pseudo-normale graphiquement et statistiquement, et surtout, pour avoir des variances homogènes. Pour les journées où une valeur témoin était nécessaire mais qui n'avait pas été mesurée, une régression entre les valeurs témoins disponibles et la moyenne des valeurs prises de P1 à P4 (4 traitements) a permis d'estimer ces valeurs manquantes. Ces estimations semblaient plutôt bonnes puisque le coefficient de détermination (R^2) était de 0,82. Pour l'analyse des données provenant des échantillons d'air récoltés par les IOM et les barboteurs AGI-30, une censure a été appliquée pour les concentrations bactériennes obtenues sous la limite de détection de la méthode d'analyse. Un modèle de régression à effet mixte avec censure à gauche a été utilisé pour l'analyse de ces données en définissant une distribution log-normal et une transformation logarithmique des valeurs. Pour toute les variables analysées, les comparaisons *a postériori* entre les différents temps de la journée ont été faites à l'aide de la méthode Tukey-Kramer. Tout seuil observé inférieur à 0,05 était considéré significatif. L'ensemble des résultats a été analysé à l'aide du progiciel SAS version 8,2 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

4. Résultats

4.1 Bioaérosols dentaires

4.1.1 Caractérisation des bioaérosols dentaires par culture sur gélose

(a) Concentration des bioaérosols générés avant, pendant et après traitements dentaires : AMS. La figure 4 nous démontre la concentration bactérienne cultivable (UFC/m^3) générée lors des nettoyages dentaires. Les valeurs obtenues pour chacun des temps d'échantillonnage sont les moyennes de 13 échantillonnages dentaires effectués dans les mêmes conditions. Les valeurs « pendant traitements » sont la moyenne des 4 patients. Les concentrations bactériennes mesurées durant les traitements varient de 4 UFC/m^3 (GS anaérobie) à 13 800 UFC/m^3 (GS anaérobie). Des concentrations bactériennes moyennes de 567, de 1 472 et de 3 083 UFC/m^3 ont été obtenues respectivement sur les milieux R2A, GS aérobie et GS anaérobie pendant traitements. Bien que le niveau de base soit relativement élevé pour l'ensemble des milieux gélosés utilisés (compris entre 150 et 287 UFC/m^3), il y a une augmentation significative de bioaérosols lors des traitements dentaires ($p \leq 0,02$). L'augmentation des bioaérosols mesurés pendant traitements par rapport au niveau de base, est moindre sur milieu R2A. Par ailleurs, des niveaux de bioaérosols aussi bas que 47 (GS aérobie) UFC/m^3 sont mesurés 2 heures après traitements. La diminution significative de bioaérosols après traitements ($p < 0,0001$) suggère un retour au niveau de base.

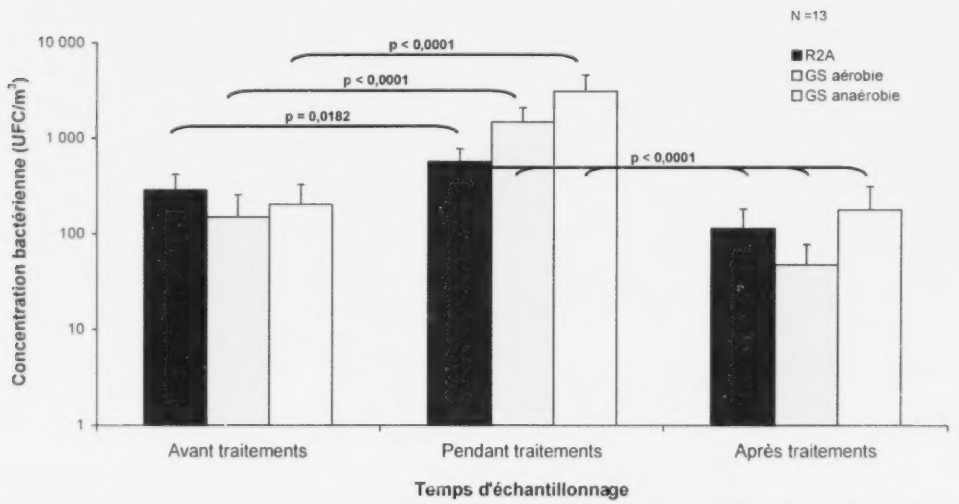


Figure 4 : Concentration moyenne de bioaérosols dentaires générés avant, pendant et après traitements et analysés par culture: AMS

La concentration bactérienne moyenne retrouvée lors du 4^e patient (3 860 UFC/m^3 sur GS anaérobie) est plus élevée que celle trouvée chez les autres patients. Par comparaison au premier patient la concentration bactérienne moyenne retrouvée sur GS anaérobie était de 2 620 UFC/m^3

(Figure 5). Bien qu'il n'y ait pas de différence significative entre les différents patients, on observe tout de même une tendance à l'accumulation dans le temps de la concentration bactérienne. Cette tendance est bien représentée à la figure 5.

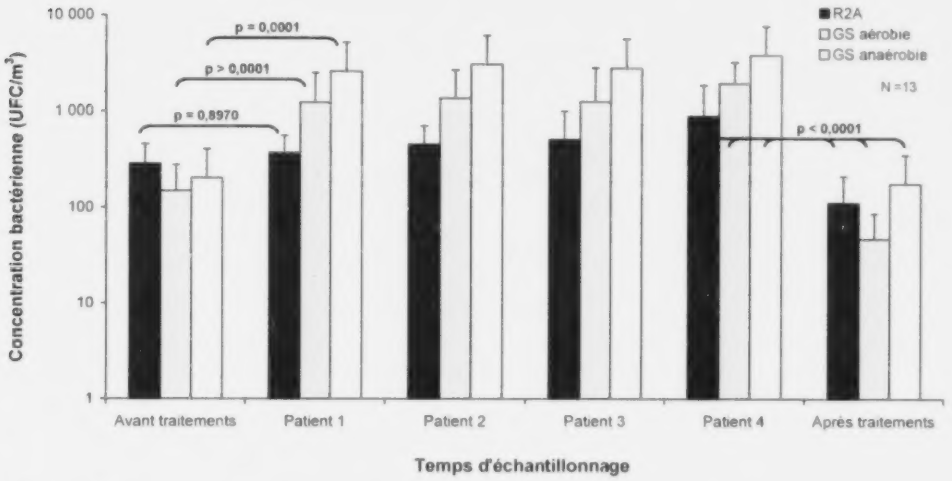


Figure 5 : Concentration moyenne de bioaérosols dentaires générés avant, après et durant 4 traitements dentaires et analysés par culture: AMS

La majorité des bioaérosols trouvés lors des traitements dentaires ont été récupérés sur gélose sang et plus spécifiquement sur géloses sang incubées en anaérobiose. Les bactéries récupérées sur milieu R2A lors des traitements, correspondent à environ 12% des bactéries totales récupérées par culture sur gélose (Figure 4).

4.1.2 Caractérisation des bioaérosols dentaires par microscopie à fluorescence : comptes totaux

a) Exposition personnelle de l'hygiéniste et des patients aux bioaérosols dentaires : IOM. La figure 6 démontre la concentration bactérienne (bactéries/m^3) mesurée aux différents sites d'échantillonnage, soit au niveau de l'hygiéniste, du patient et dans le local extérieur. La valeur obtenue pour chacun des sites est la moyenne de 12 échantillonnages dentaires effectués dans les mêmes conditions. Une journée de prélèvement a été perdue en raison d'une contamination extérieure. La limite de détection de cette méthode est de $3{,}0x10^3$ bactéries/m^3. Une exposition moyenne de $4{,}5x10^3$, $4{,}1x10^4$ et de $4{,}2x10^4$ bactéries/m^3 a été observée respectivement au niveau du témoin extérieur, du patient et de l'hygiéniste. Durant certaines journées, l'hygiéniste et le patient ont été exposés à plus de 100 000 bactéries/m^3. Malgré une grande variabilité des comptes obtenus au niveau du patient et du témoin extérieur, il y a une différence significative entre le témoin extérieur et l'hygiéniste ($p < 0{,}0001$) ainsi qu'entre le témoin extérieur et le patient ($p = 0{,}0002$). Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre le patient et l'hygiéniste ($p = 0{,}2$).

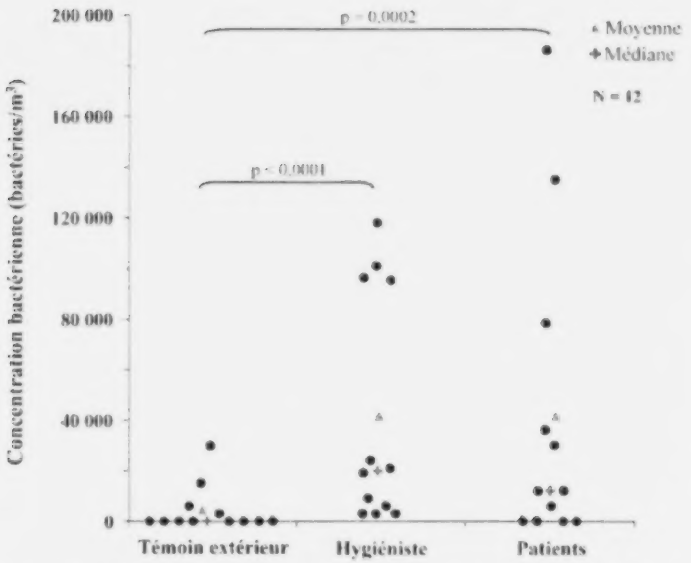


Figure 6 : Exposition personnelle de l'hygiéniste et des patients aux bioaérosols dentaires évaluées par microscopie à fluorescence (comptes totaux) : IOM

Dans un second lieu le pourcentage de viabilité en fonction du site d'échantillonnage a été déterminé. On observe un pourcentage de viabilité bactérienne médian de 75% au niveau du témoin extérieur et d'environ 50% au niveau de l'hygiéniste (49%) et du patient (53%).

(b) Concentration des bioaérosols générés avant, pendant et après traitements : AGI. Dans le cas des échantillons recueillis à partir des barboteurs AGI-30, les résultats obtenus sont présentés à la figure 7. Les valeurs obtenues pour chacun des temps d'échantillonnage sont la moyenne de 12 échantillonnages dentaires sur 13 possibles (contamination). Les valeurs « pendant traitements » sont la moyenne des 4 patients. L'ensemble des échantillonnages a été effectué dans les mêmes conditions. La limite de détection de cette méthode est de $1,1x10^4$ bactéries/m^3. Bien que la figure 7 démontre des concentrations bactériennes moyennes avant, pendant et après traitements de l'ordre de 1 000 bactéries/m^3, la concentration bactérienne médiane est nulle pour l'ensemble des échantillons. La grande variabilité des comptes obtenus occasionne l'absence de changements significatifs entre les différents temps de prélèvement. Par contre, la variation dans le temps de la concentration de bioaérosols est semblable à celle observée avec les échantillonneurs AMS par culture sur gélose : il y a une augmentation tendancielle de la concentration de bioaérosols générés pendant les traitements dentaires et la charge bactérienne semble plus élevée au niveau du 4^e patient suggérant une augmentation tendancielle de la concentration bactérienne durant les traitements (résultats non illustrés).

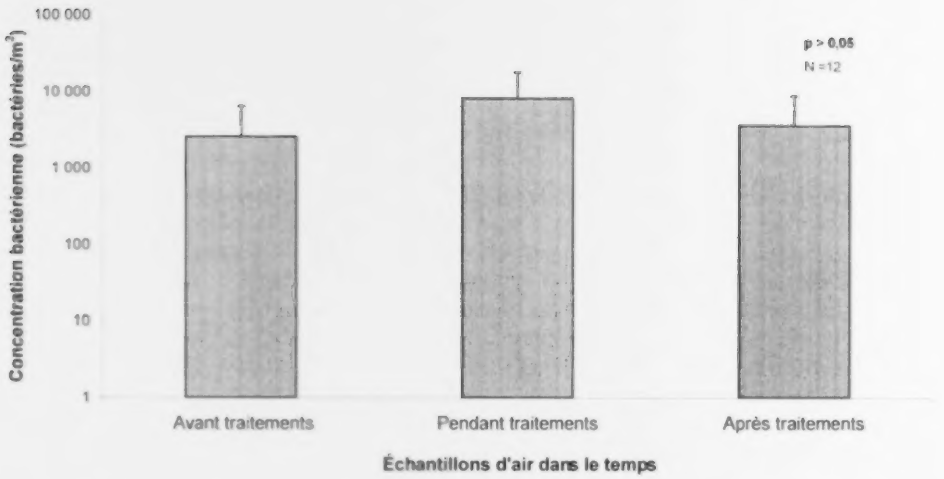


Figure 7 : Concentration moyenne des bioaérosols dentaires produit avant, pendant et après traitements et analysées par microscopie à fluorescence: AGI-30

4.1.3 Caractérisation des bioaérosols dentaires : dosage des endotoxines

Les concentrations d'endotoxines mesurées dans l'air avant, pendant et après traitements, sont présentés à la figure 8. Le dosage des endotoxines a été effectué sur les échantillons d'air récupéré par les barboteurs AGI-30. Le témoin est de l'eau physiologique stérile pré-filtrée.

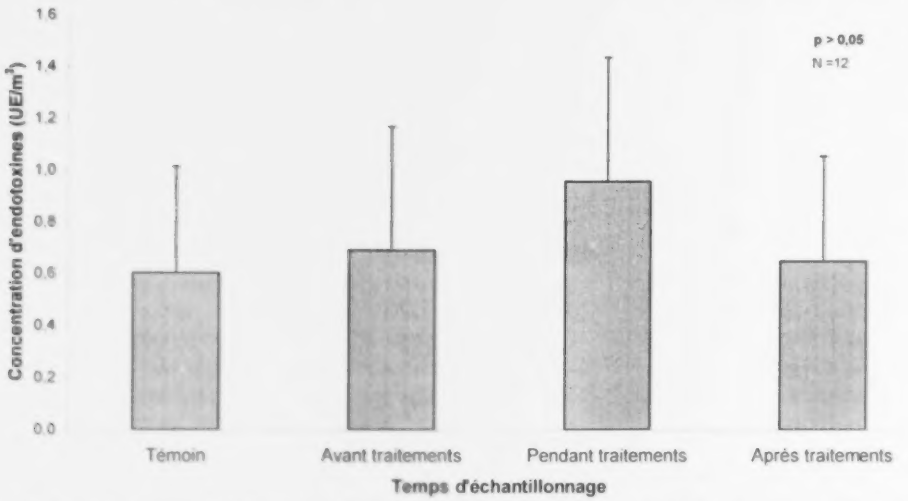


Figure 8 : Concentration d'endotoxines mesurée dans l'air avant, pendant et après traitements: AGI-30

La valeur obtenue pour chacun des temps est la moyenne de 12 échantillonnages effectués dans les mêmes conditions. En raison des valeurs erratiques obtenues à la 7e journée, ces échantillons ont été écartés. Les valeurs « pendant traitements » sont la moyenne des 4 patients. Les concentrations d'endotoxines retrouvées varient entre 0,13 (avant traitements) et 5,4 UE/m^3 (4e patients) (unité d'endotoxine/m^3). L'air prélevé durant le 4e patient démontre la plus forte concentration d'endotoxines moyenne (1,2 UE/m^3). Bien que la concentration d'endotoxines ait tendance à être plus élevée lors des traitements dentaires qu'avant et après traitements, il n'y pas de différence significative (Figure 8). La concentration moyenne durant traitements est de 0,86 UE/m^3 comparativement à 0,69 et 0,65 UE/m^3 avant et après traitements, respectivement.

4.1.4 Caractérisation des aérosols totaux générés lors des traitements dentaires

L'échantillonnage et l'analyse des aérosols a été possible grâce à l'utilisation de l'APS. Puisque lors du 1er échantillonnage, l'APS a été utilisé pour déterminer de la zone de projection des aérosols, les valeurs obtenues pour chacun des six temps d'échantillonnage sont la moyenne de 12 échantillonnages effectués dans les mêmes conditions. Les valeurs « pendant traitements » sont la moyenne des 4 patients.

(a) Diamètre aérodynamique (µm) : APS. Le diamètre aérodynamique moyen des aérosols totaux mesurés est présenté à la figure 9. Le diamètre aérodynamique moyen des aérosols dentaires est compris entre 0,65 µm et 0,84 µm. Le diamètre aérodynamique moyen des aérosols générés avant, pendant et après traitements est respectivement de 0,73 µm, 0,73 µm et de 0,68 µm (Figure 9). Il y a une différence significative du diamètre aérodynamique retrouvé pendant traitements et après traitements ($p = 0,04$). Par contre, le diamètre aérodynamique des aérosols récupérés avant et pendant traitement est similaire ($p > 0,05$).

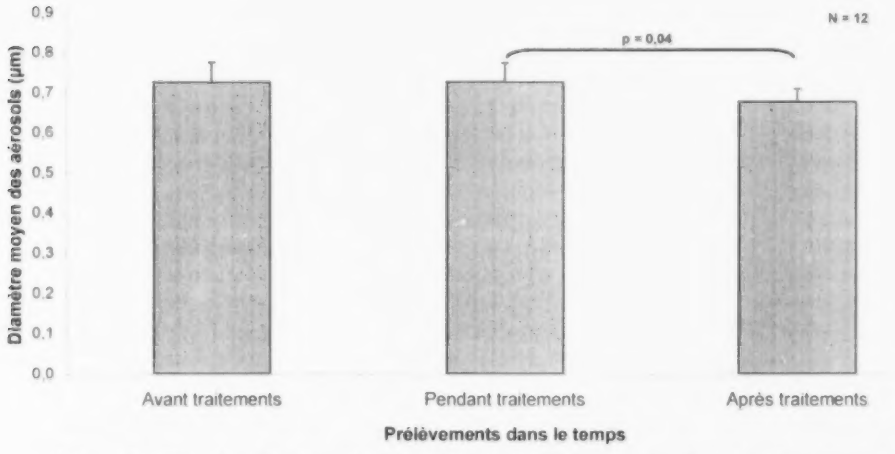


Figure 9 : Diamètre aérodynamique des aérosols générés avant, pendant et après traitements

(b) Concentration totale (#/cm^3) : APS. La concentration des aérosols dentaires est comprise entre 4,3 et 50,8 aérosols/cm^3 (Figure 10). La concentration totale moyenne des aérosols générés avant, pendant et après traitements est respectivement de 19,5, 16,8 et de 20,6 aérosols/cm^3. Bien que l'on observe une diminution tendancielle des aérosols totaux lors des traitements dentaires par rapport au niveau de base et après traitements, aucune différence significative n'est observée.

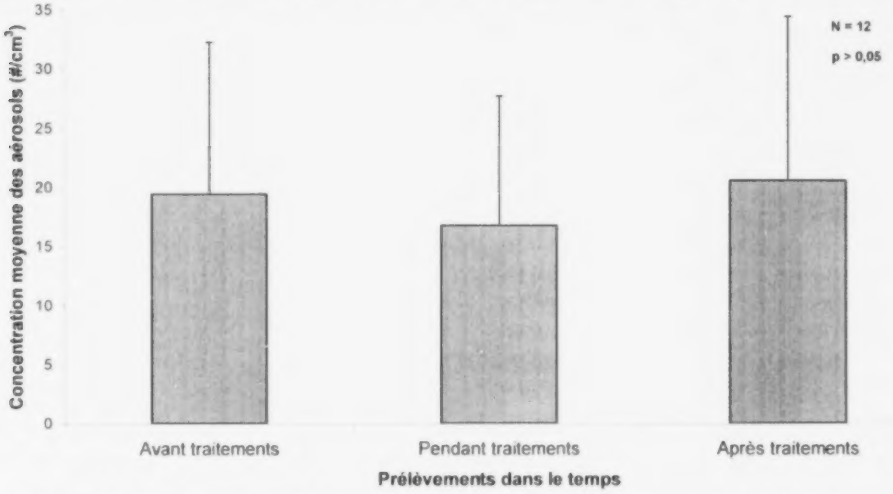


Figure 10 : Concentration totale moyenne d'aérosols générés avant,p endant et après traitements

(c) Concentration massique (µg/m^3) : APS. La concentration massique des aérosols dentaires est comprise entre 9,5 et 49,1 µg/m^3 (Figure 11). La concentration massique moyenne des aérosols générés avant, pendant et après traitements est respectivement de 17,6, 20,6 et de

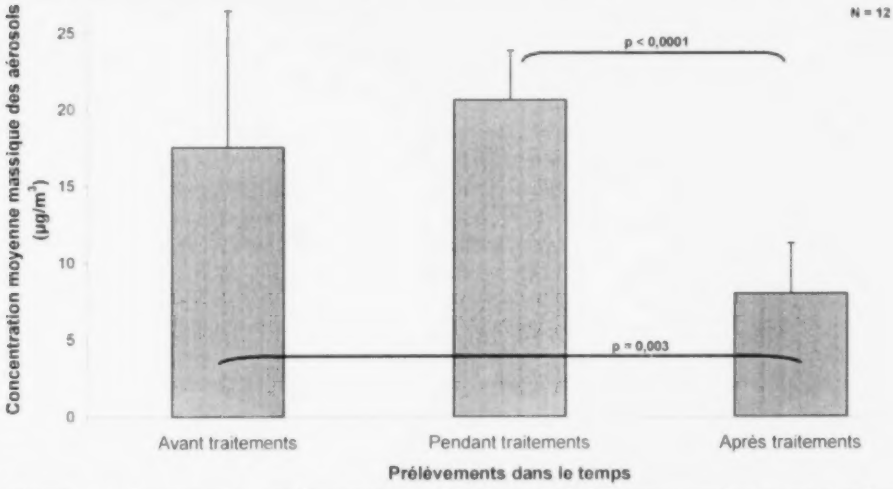


Figure 11 : Concentration massique moyenne des aérosols générés avant, pendant et après traitements

8,0 µg/m^3. Par rapport au niveau de base, la concentration massique des aérosols à tendance à augmenter lors des traitements (Figure 11). La concentration massique des aérosols après traitements est significativement inférieure à la celle mesurée avant (p = 0,003) et pendant traitements (p = 0,001).

4.1.5 Température et humidité du local de traitements

La température et humidité relative de l'air mesurées avant, pendant et après traitements, sont présentées au tableau 7. La valeur obtenue pour chacun des temps est la moyenne de 13 échantillonnages effectués dans les mêmes conditions. Les valeurs « pendant traitements » sont la moyenne des 4 patients. Bien que la température (sèche et humide) ainsi que l'humidité aient tendances a être plus élevées lors des traitements dentaires qu'avant et après traitements, aucune différence significative n'a été observée (Tableau 8). Pour les 13 échantillonnages, la température sec et humide est respectivement comprise entre 20 et 26°C et entre 11 et 19°C pour une moyenne globale de 23 et 14°C. L'humidité moyenne est de 42% avec un minimum de 24 et un maximum de 58%.

Tableau 7 : Température et humidité relative du local de traitement

Échantillonnages N = 13	Température sèche (°C)			Température humide (°C)			Humidité (%)		
	Avant traitements	Pendant traitements	Après traitements	Avant traitements	Pendant traitements	Après traitements	Avant traitements	Pendant traitements	Après traitements
Moyenne	22	23	23	13	15	14	38	43	40
Moyenne globale	23			14			42		

4.1.6 Caractérisation du 14^e échantillonnage : modulation de la ventilation

Puisqu'un seul échantillonnage a été effectué dans ces conditions (2,8 changements d'air/heure), les donnés sont présentées séparément. Les valeurs « pendant traitements » sont la

Tableau 8 : Résumé de l'analyse de l'air pour le 14^e échantillonnage

		Concentration bactérienne dans le temps (UFC-bactéries/m^3)						
		Avant traitements	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Après traitements	Pendant traitements
Culture (AMS)	R2A	261	592	348	390	537	44	467
	GS aérobie	277	539	378	470	1 210	32	649
	GS anaérobie	346	576	544	640	1 100	72	715
MF	AGI	0	9 600	0	0	346 000	0	88 900

		Concentration bactérienne par site (bactéries/m^3)		
		Témoin extérieur	Hygiéniste	Patients
MF	IOM	0	3 600	25 200

moyenne des 4 patients (Tableau 8). Bien que les comptes observés sur gélose sang (aérobiose et anaérobiose) durant les traitements semblent être moindres dans le cas de ce 14^{e} échantillonnage, les échantillons d'air récupérés par AMS démontrent généralement des concentrations bactériennes comparables à certain des 13 autres échantillonnages (Tableau 8, Figure 4).

Dans le cas des échantillons d'air récupérés par les barboteurs AGI-30, en raison de la grande variabilité des comptes obtenus avec cette méthode d'échantillonnage combinée à la MF, aucune hypothèse ne peut être émise.

Pour ce qui est de l'analyse des échantillons d'air provenant des IOM, les concentrations bactériennes mesurées pour le témoin extérieur, l'hygiéniste et le patient sont comparables à celles obtenues durant les 13 autres échantillonnages (Tableau 8, Figure 6).

4.2 Sources des bioaérosols dentaires

4.2.1 Caractérisation de la cohorte de patients et de leurs habitudes d'hygiène dentaire

(a) Caractérisation de la cohorte de patients. La moyenne d'âge de notre cohorte était de 29 ans (médiane 25) et nous avions 20 hommes et 32 femmes (Tableau 9). En moyenne, 1h15 avant traitement, 71% (37/52) des gens avaient utilisé la brosse à dent, 23% (12/52) la soie dentaire et 4% (2/52) un rince bouche quelconque. Le tableau 9 est la compilation de l'hygiène dentaire avant traitements des 1er, 2^{e}, 3^{e} et 4^{e} patients pour l'ensemble des 13 échantillonnages. Il faut noter que la majorité des patients étaient des étudiants et employés de l'hôpital Laval. A l'exception des 3^{e} patients l'hygiène dentaire des patients avant traitement a tendance à diminuer ($p > 0,05$) dans le temps (Tableau 9).

Tableau 9 : Hygiène dentaire des patients avant traitement dentaire

Caractérisation N = 13	Hygiène dentaire avant traitement* (% d'utilisation)				
	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patients Totaux
Brosse à dents	77%	69%	85%	54%	71%
Soie dentaire	23%	15%	38%	15%	23%
Rince bouche	8%	0%	8%	0%	4%
Appareil dentaire	8%	8%	8%	8%	8%
Age moyen (ans)	31	27	28	29	29
Age médian (ans)	25	24	26	25	25

*Dans les 4 heures précédant le traitement

(b) Caractérisation des habitudes quotidiennes d'hygiène dentaire. Selon notre charte (Tableau 6) notre cohorte de patients avait dans 71% (37/52) des cas une bonne hygiène dentaire (cote ≥ 4). Dans 92% des cas nos patients se brossent les dents au minimum deux fois par jour et dans 48% des cas ils subissaient un nettoyage dentaire (en cabinet) au moins une fois par année. Bien que tous les patients se brossent les dents au moins une fois par jour, seulement 17% utilisaient la soie dentaire régulièrement, c'est-à-dire au moins une fois par jour. Le tableau 10 est la compilation des 1er, 2^{e}, 3^{e} et 4^{e} patients pour l'ensemble des 13 échantillonnages. Les habitudes d'hygiène dentaire quotidiennes semblent bien dispersées dans le temps, même si on remarque une tendance à une moins bonne hygiène quotidienne pour les 1er patients ($p > 0,05$).

Tableau 10 : Habitudes quotidiennes d'hygiène dentaire des patients

Caractérisation N = 13	Habitudes d'hygiène dentaire (nombre de patients par cote)											
	Patient 1 Cote de ...			Patient 2 Cote de ...			Patient 3 Cote de ...			Patient 4 Cote de ...		
	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2
Nettoyage dentaire	5	4	4	1	7	5	1	3	9	1	5	7
Brosse à dents	0	0	13	0	1	12	0	1	12	0	2	11
Soie dentaire	6	5	2	4	8	1	6	4	3	2	8	3
Somme globale	11	9	19	5	16	18	7	8	24	3	15	21
Cote globale	47			52			56			57		
Cote de 4 et + (nombre)	7			9			11			10		

4.2.2 Caractérisation de la salive des patients

(a) Concentration bactérienne déterminée par microscopie à fluorescence. Les résultats obtenus sont présentés à la figure 12. Un échantillon de salive a été prélevé avant le traitement pour 51 des 52 patients (1 désistement). Les valeurs présentées pour chacun des types de patient (1 à 4) sont la moyenne de 13 journées d'échantillonnages. Les échantillonnages ont été effectués dans les mêmes conditions. La concentration de bactéries salivaires est comprise entre $1{,}8x10^8$ et $2{,}7x10^9$ bactéries/ml. La concentration bactérienne moyenne pour les 1er, 2e, 3e et 4e patients est respectivement de $4{,}3x10^8$, $6{,}4x10^8$, $6{,}6x10^8$ et $8{,}3x10^8$ bactéries/ml. Notez que le patient 1 correspond au premier nettoyage dentaire de la journée et que le patient 4 correspond donc au dernier nettoyage journalier. Une variation significative entre les types de patients est observée ($p = 0{,}004$), par contre aucune différence significative est observée entre les différents jours d'échantillonnage ($p = 0{,}6$).

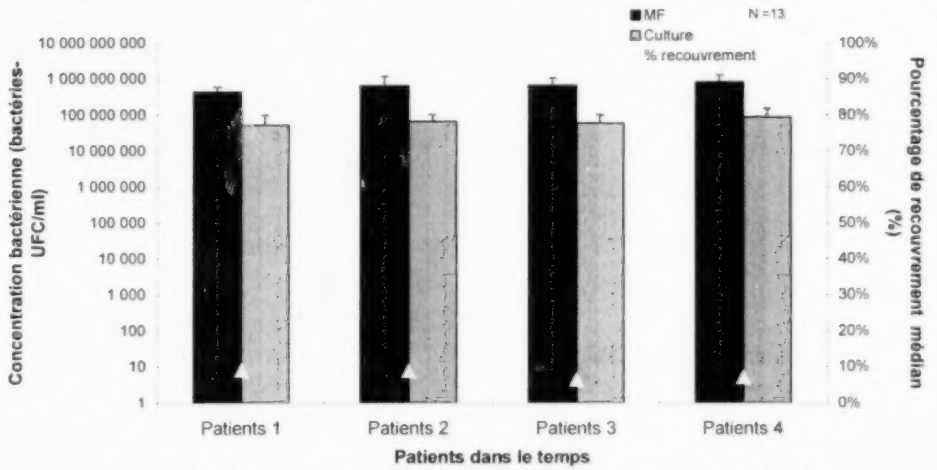


Figure 12 : Concentration bactérienne salivaire des patients dans le temps

(b) Concentration bactérienne déterminée par culture et comparaison des méthodes d'analyse. La concentration bactérienne salivaire cultivable est comprise entre $1{,}0x10^7$ et $4{,}2x10^8$ UFC/ml. La concentration bactérienne moyenne cultivable pour les 1er, 2e, 3e et 4e patients est respectivement de $5{,}2x10^7$, $6{,}6x10^7$, $5{,}9x10^7$ et $8{,}7x10^7$ UFC/ml (Figure 12). Ceci correspond à une sous-estimation uniforme d'environ 92% de l'analyse par culture sur gélose comparativement aux comptes obtenus en MF (% de recouvrement, Figure 12).

La compilation des 51 patients, résumée au tableau 11, démontre une fois de plus que l'utilisation de la culture comme méthode d'analyse engendre une sous-estimation significative de 93% ($p < 0{,}0001$) par rapport à la MF.

Tableau 11 : Concentration bactérienne salivaire totale

	Concentration bactérienne totale		
	Culture (UFC/ml)	**MF (cellules/ml)**	**%***
N (patients)	51	35	
Moyenne	**6,61E+07**	**6,41E+08**	**12%**
Médiane	**4,50E+07**	**4,24E+08**	**7%**
Ecart-type	7,17E+07	5,57E+08	
Ecart-type moy	4,75E+07	4,13E+08	

* % de recouvrement = comptes cultures/comptes MF X 100

4.2.3 Caractérisation de l'eau de l'unité dentaire

(a) Concentration bactérienne et pourcentage de viabilité déterminées par microscopie à fluorescence. La plus grande concentration bactérienne ($3,2x10^6$ bactéries/ml) correspond à l'échantillon d'eau de purge prélevé au premier échantillonnage. La concentration bactérienne moyenne retrouvée dans l'eau de purge, après purge et après traitements est respectivement de $1,7x10^6$, $5,4x10^5$ et de $2,0x10^5$ bactéries/ml. La concentration moyenne de l'eau de ville est de $1,0x10^5$ bactéries/ml. Il y a une décroissance significative dans le temps de la concentration bactérienne présente dans l'eau des unités dentaires ($p < 0,0001$) (Figure 13). De plus, les échantillons d'eau de l'unité dentaire contiennent une plus grande quantité de bactéries que ceux de l'eau de ville ($p \leq 0,0002$).

Les bactéries des échantillons d'eau de purge et après purge sont significativement plus viables (perméabilité membranaire) que ceux de l'eau de ville ($p < 0,0001$). De plus, il y a une décroissance significative dans le temps de la viabilité bactérienne présente dans l'eau de unité dentaire ($p < 0,003$). Les pourcentages de viabilité médians mesurés pour l'eau de purge, après purge, après traitement sont respectivement de 39%, 31% et 19%. La viabilité de 15% des échantillons d'eau de ville est similaire à celle retrouvée dans l'eau après traitements (Figure 13).

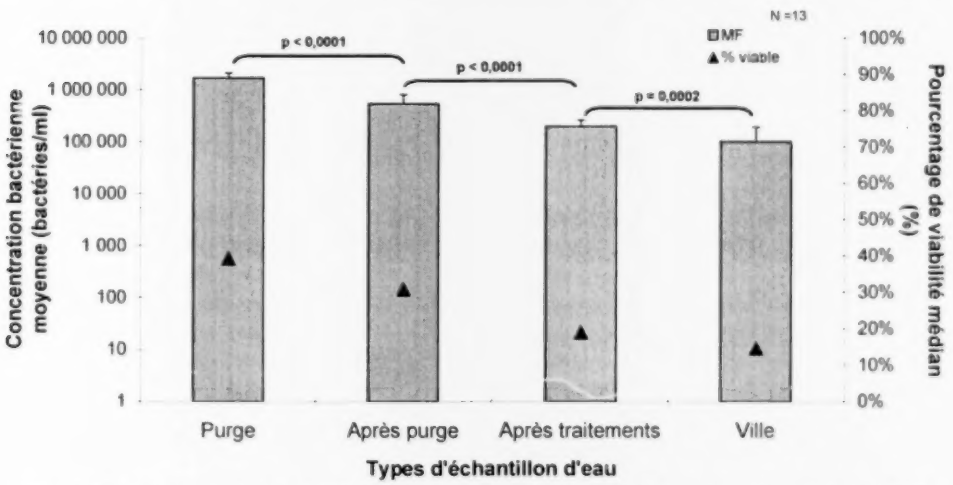


Figure 13 : Concentration et viabilité bactérienne de l'eau des unités dentaires déterminées par MF

(b) Concentration bactérienne déterminée par culture et par cytométrie en flux et comparaison des méthodes d'analyse. Tel que mentionné précédemment la quantification bactérienne des échantillons d'eau a aussi été faites par culture sur gélose (Figure 14) et par CMF (Figure 15). Les résultats obtenus avec ces deux méthodes d'analyse ont été comparés à la MF. La comparaison des figures 13 à 15 ainsi que le tableau 12 démontre la sous-estimation de la CMF et de la culture par rapport à la détection par MF. Les concentrations bactériennes moyennes de l'eau de purge mesurée par CMF et par culture sont respectivement de $1,01x10^4$ bactéries/ml et $1,7x10^5$ UFC/ml, ce qui représente respectivement 5 et 9% des bactéries quantifiées par MF (Tableau 12). Cette sous-estimation significative est présente pour l'ensemble

des échantillons d'eau prélevés et la détection médiane de la CMF ($p < 0,0001$) et de la culture ($p < 0,0001$) par rapport à la MF est au maximum de 13% (Tableau 12).

Tableau 12 : Pourcentage de détection de la CMF et de la culture (R2A) par rapport à la MF

Échantillonnage	Pourcentage de détection par rapport à la microscopie à fluorescence							
	Purge		Après purge		Après traitements		Ville	
N = 13	CMF	R2A	CMF	R2A	CMF	R2A	CMF	R2A
Moyenne	6%	10%	7%	12%	6%	5%	52%	3%
Mediane	5%	9%	1%	13%	6%	7%	7%	1%
Ecart-type	0,027	0,032	0,210	0,059	0,036	0,029	1,178	0,048
Ecart-type moy	0,021	0,025	0,107	0,047	0,029	0,024	0,690	0,039

Comme par MF, la culture sur milieu R2A démontre une décroissance significative dans le temps de la concentration bactérienne présente dans l'eau des unités dentaires, ainsi qu'une plus grande concentration de bactéries dans l'eau des unités dentaires par rapport à l'eau de ville ($p \leq 0,0006$) (Figure 14). Ces différences sont moins évidentes suite à l'utilisation de la CMF comme méthode d'analyse (Figure 15). En effet, la CMF donne des résultats beaucoup plus variables (0% à 430% de détection). Cette variabilité est présente essentiellement au niveau de l'échantillon d'eau de ville (échantillon le moins concentré). Bref, la CMF démontre seulement que les échantillons d'eau de purge sont significativement plus concentrés que les autres échantillons ($p \leq 0,01$). Elle ne fait pas de différence entre l'eau après purge, après traitements et l'eau de ville.

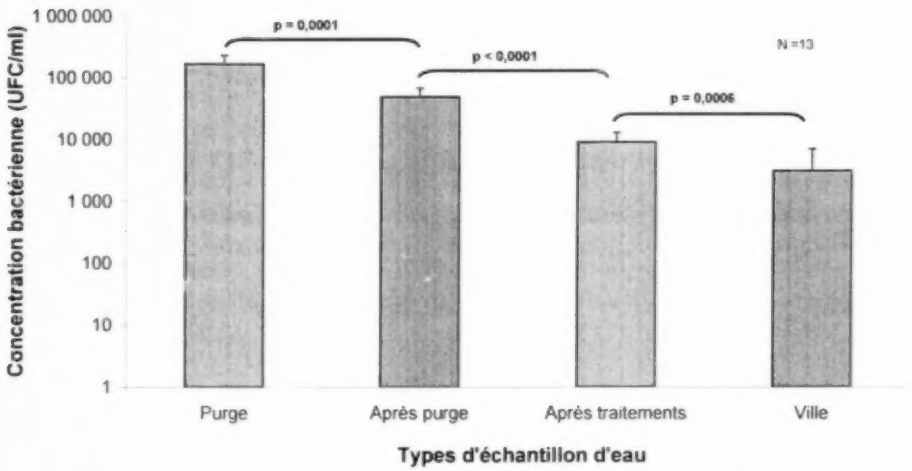


Figure 14 : Concentration bactérienne moyenne de l'eau des unités dentaires déterminée par culture (R2A)

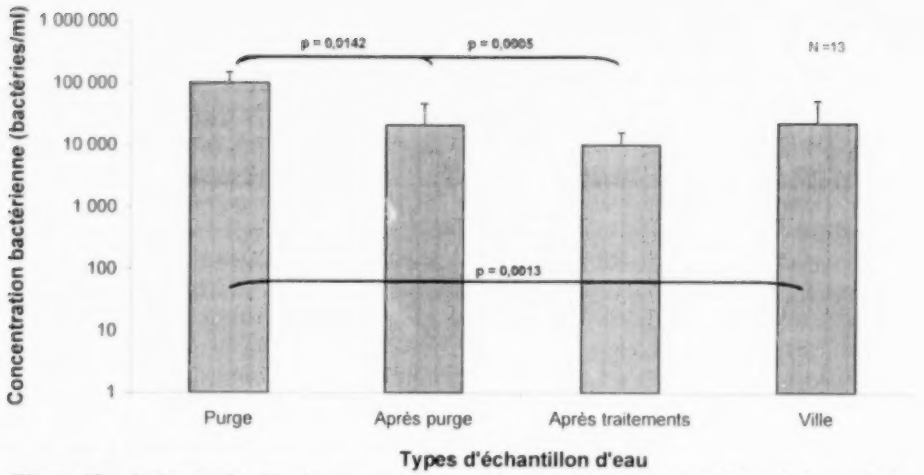


Figure 15 : Concentration bactérienne moyenne de l'eau des unités dentaires déterminée par CMF

(c) Concentration d'endotoxines. Les concentrations d'endotoxines mesurées sont présentées à la figure 16. La valeur obtenue pour chacun des sites est la moyenne de 12 échantillonnages effectués dans les mêmes conditions. En raison des valeurs discutables obtenues à la 13e journée, ces valeurs ont été ignorées. La concentration d'endotoxines se situe entre 1,1 et 15,8 UE/ml. L'eau de purge est la plus concentrée avec une concentration moyenne de 13,4 UE/ml. La concentration d'endotoxines diminue significativement dans le temps ($p < 0,0001$), pour atteindre des concentrations moyennes de 7,8 et 5,2 UE/ml pour l'eau après purge et après

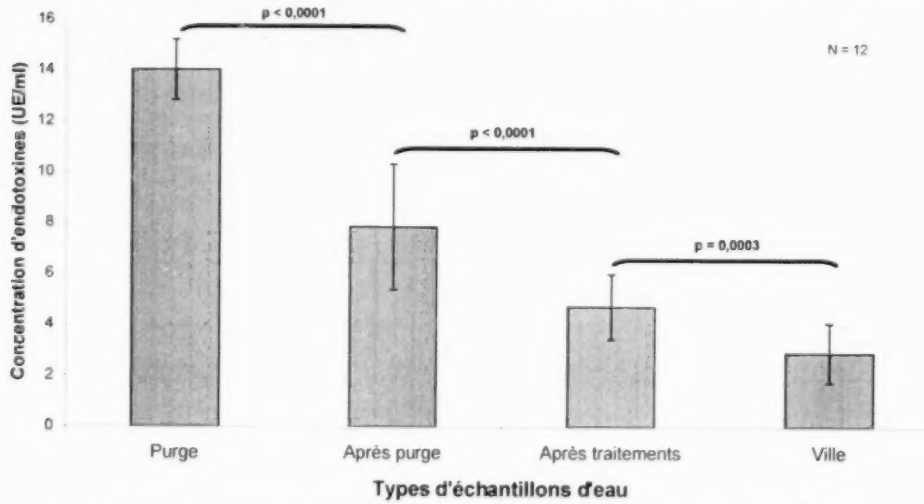


Figure 16 : Concentration moyenne d'endotoxines dosées dans l'eau des unités dentaires

traitements, respectivement. La concentration moyenne d'endotoxines retrouvée dans l'eau de ville est encore moindre, soit de 3,0 UE/ml. L'ensemble des échantillons d'eau d'unité dentaire est significativement supérieure à la concentration retrouvée dans l'eau de ville ($p \leq 0,003$).

(d) Caractérisation bactérienne des l'eau de l'unité dentaire par culture sur gélose. Tel que mentionné précédemment, la détection de *Mycobacterium* spp. et *Legionella* spp. des échantillons d'eau de l'unité dentaires a aussi été faite par culture sur gélose (Tableau 13). Les valeurs présentées au tableau 13 sont les moyennes de 13 échantillonnages effectués dans les même conditions. Les concentrations de mycobactéries retrouvées dans l'eau de l'unité dentaire varient de 0 à 16 UFC/ml. La limite de détection de la méthode de détection par culture sur gélose de *Mycobacterium* spp. et de *Legionella* spp. est respectivement de 0,01 UFC/ml et de 0,02 UFC/ml. Des concentrations moyennes de 2,6, 2,0, et de 1,4 UFC/ml ont été obtenues respectivement dans l'eau de purge, après purge et après traitements. La concentration moyenne pour l'eau de ville est de 2,5 UFC/ml. Bien qu'il n'y ait pas de différence significative entre les différents échantillons d'eau de l'unité dentaire, on observe tout de même une diminution tendancielle dans le temps ($p > 0,05$). Aucune différence significative entre les différents échantillons d'eau de l'unité et l'eau de ville ($p > 0,05$). D'autre part, pour l'ensemble des 4 types échantillons d'eau prélevé, aucune légionelle n'a été observée, sauf pour deux 2 échantillons où l'eau de purge a démontré une faible contamination de 0,3 et de 1,3 UFC/ml.

Tableau 13 : Détection et quantification par culture sur gélose de pathogènes dans l'eau de l'unité dentaire

Échanillonnnages N = 13	*Mycobacterium* spp. (UFC/ml)				*Legionella* spp. (UFC/ml)			
	Purge	Après purge	Après traitements	Ville	Purge	Après purge	Après traitements	Ville
Moyenne	2,6	2,0	1,4	2,5	0,1	0,0	0,0	0,0
Médiane	1,1	0,8	0,4	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0

4.3 Synthèse de la caractérisation des bioaérosols dentaires

Le tableau suivant est un résumé de l'ensemble des résultats recueillis suite à l'analyse des bioaérosols dentaires et de ses sources potentielles, soit l'eau des unités dentaires et la salive des patients.

Tableau 14 : Résumé de la caractérisation des bioaérosols dentaires

Prélèvement	Analyse	Concentrations moyennes		
		Avant traitements	Pendant traitements	Après traitements
AMS	Cultrue sur gélose R2A (UFC/m^3)	287	567	113
	Culture sur gélose sang ($-O_2$) (UFC/m^3)	203	3 083	177
	Culture sur gélose sang ($+O_2$) (UFC/m^3)	150	1 472	47
AGI-30	MF (bactéries/m^3)	2 620	8 390	3 680
	Endotoxines (UE/m^3)	0,691	0,860	0,649
IOM	MF (bactéries/m^3)		41 600	
APS	Diamètre aérodynamique (µm)	0,73	0,73	0,68
	Concentration totales (aérosols/cm^3)	19,46	16,80	20,61
	Concentration massique (µg/m^3)	17,55	20,64	8,02
Eau	Culture (UFC/ml)	169 000	49 900	9 320
	MF (bactéries/ml)	1 710 000	542 000	198 000
	CMF (bactéries/ml)	101 000	21 200	10 200
Salive	Culture (UFC/ml)		66 100 000	
	MF (bactéries/ml)		641 000 000	

5. Discussion

5.1 Bioaérosols dentaires

L'analyse de l'air des cabinets dentaires par la méthode traditionnelle de culture nous permet de comparer les concentrations bactériennes mesurées lors de notre étude à celle présentées par la littérature actuelle[25]. Dans des conditions semblables, la charge microbienne retrouvée pendant les traitements lors de notre étude est près de 10 fois supérieure à celle présentée dans la littérature actuelle[25,26,29,31]. Nos résultats sont tout de même inférieurs à ceux obtenu par l'équipe de Bennett *et al.*, où des pics de 7 000 UFC/m^3 on été mesurés[9]. L'augmentation marquée de la concentration bactérienne retrouvée lors des traitements dentaires suggère que les traitements de dentisterie (détartrage ultrasonique) génèrent la production de bioaérosols (Figure 4). De plus, le taux de changement d'air/heure neuf de 1,2 ne semble pas être suffisant pour purger les bioaérosols produits lors des traitements dentaires puisqu'on observe une accumulation tendancielle des bioaérosols lors des traitements (Figure 5). Par contre, une période de deux heures sans traitement est suffisante pour revenir au niveau de base (Figure 4). Par ailleurs, puisqu'il s'agit d'un changement d'air neuf à 100% et non d'un recyclage partiel de l'air, tel qu'observé dans plusieurs cabinets cliniques, la purge des bioaérosols dentaires en est facilitée. L'élimination des bioaérosols dentaires après 2 heures coïncide avec les taux de sédimentation présentés par Lacey *et al.*[30], démontrant une sédimentation de 1,5 mètres en 2 heures. Par contre, il ne faut pas sous estimer l'effet de la ventilation sur l'élimination des aérosols ainsi que le déplacement aléatoire du personnel dans le local de traitements. Par ailleurs, les concentrations bactériennes mesurées 2 heures après l'arrêt des traitements semblent relativement plus faibles que le niveau de base. Le brassage inévitable de l'air par notre arrivé dans le local de traitement, inoccupé depuis au moins 2 jours, peut expliquer les concentrations de bioaérosols mesurées avant traitements. Suite à l'utilisation de différents milieux de culture sur gélose lors de l'échantillonnage des bioaérosols dentaires, nous pouvons estimer la nature des bioaérosols présents. La majorité des bioaérosols trouvés lors des traitements dentaires ont été récupérés sur gélose sang et plus spécifiquement sur géloses sang incubées en anaérobiose, suggérant ainsi que la majorité des bioaérosols générés lors des traitements dentaires sont d'origine buccale. Par ailleurs, l'augmentation de la concentration bactérienne retrouvée sur milieu R2A lors des traitements dentaires par rapport au niveau de base, suggère l'aérosolisation de bactéries d'origine hydrique. Par contre, bien que la composition (milieu pauvre) du milieu R2A favorise la croissance des bactéries environnementales (ex : bactéries de l'eau) d'autres bactéries peuvent y croître.

Bien que la limite de détection imputée par l'analyse des membranes d'IOM est relativement élevée ($3,0x10^3$ bactéries/m^3) comparativement à la culture sur gélose (2 UFC/m^3), l'utilisation d'IOM chargés avec des membranes de polycarbonate combinée à l'analyse directe par microscopie à fluorescence nous a permis d'estimer la charge totale des bactéries présentes dans le local de traitements. En effet, nous avons déterminé que le personnel dentaire et les patients sont exposés à des concentrations de bioaérosols dentaires pouvant atteindre 186 000 bactéries/m^3 et à des concentrations médianes d'environ 12 000 bactéries/m^3 d'air (Figure 6). Cette exposition constante lors des traitements dentaires jumelée au fait que la moitié des bactéries démontrent une paroi membranaire intacte (coloration « LIVE/DEAD® ») augmentent les risques d'infections et de sensibilisation du personnel dentaire. Par ailleurs, puisque la concentration de bioaérosols retrouvés aux différents sites d'échantillonnage (patient

et hygiéniste) est du même ordre de grandeur, on peut supposer que la dispersion des bioaérosols dentaire par la ventilation est uniforme.

L'échec de l'analyse par microscopie à fluorescence des échantillons d'air récoltés par les barboteurs AGI-30 peut être expliqué par la concentration des bioaérosols dentaires, les dilutions imposées par la méthode ainsi que la haute limite de détection de $1,2x10^4$ bactéries/m^3. De plus, contrairement aux IOM, les barboteurs AGI-30 sont conçus pour récolter essentiellement les aérosols < 15 µm (aérosols qui vont atteindre efficacement les voies respiratoires). Par contre, la limite de collection des IOM est beaucoup plus grande (100 µm) et permet ainsi de quantifier les bactéries se présentant en amas > 15 µm (bactéries présentes dans la plaque dentaire).

Puisque la mesure des endotoxines a été effectuée sur une partie du volume récupéré par les barboteurs AGI-30, il n'est pas surprenant que les concentrations obtenues soient relativement faibles (dilution). Bien que la concentration d'endotoxines dans le temps (avant, pendant et après traitements) ne démontre aucune différence significative, on observe une variation tendancielle dans le temps comparable à la concentration bactérienne mesurée par culture sur gélose (AMS). Puisque les endotoxines sont les marqueurs de la présence de bactéries à Gram négatif, l'augmentation de la concentration d'endotoxines est une autre confirmation de la génération de bioaérosols lors des traitements dentaires. Par contre, les concentrations moyennes retrouvées de l'ordre de 0,86 UE/m^3 sont en dessous de 50 UE/m^3 par 8 heures de travail, limite d'exposition suggérée par Heederick *et al.*[27]. De plus, les concentrations d'endotoxines sont en dessous des critères d'actions proposés par l'IRSST[24].

Tel que mentionné précédemment, l'étude des aérosols totaux générés lors des traitements dentaires a été effectuée par l'APS et nous a permis d'obtenir dans le temps une concentration d'aérosols/cm^3, une concentration massique des aérosols (µg/m^3) ainsi que le diamètre aérodynamique des aérosols (µm). Le faible diamètre aérodynamique des aérosols dentaires (<1 µm) lors des traitements facilite le contact avec le système respiratoire des personnes exposées. Par ailleurs, la diminution du diamètre aérodynamique et de la concentration massique après traitements suggère un changement dans la nature des aérosols présents. Par contre, aucune conclusion ne peut être tirée des données de la caractérisation des aérosols totaux dans le temps (diamètre, concentration et masse).

Comme mentionné précédemment, dans le but de mesurer l'effet de la ventilation sur les bioaérosols dentaires, un 14^e échantillonnage a été effectué près d'un an après la fin du 13^e échantillonnage. L'échantillonnage s'est déroulé dans les mêmes conditions sauf que le taux de changement d'air neuf à l'heure pour ce 14^e prélèvement est de 2,8 au lieu de 1,2. Bien que le recouvrement de bactéries sur les milieux gélose sang semble moindre lors de ce 14^e échantillonnage, la contamination bactérienne de l'air est généralement comparable aux 13 autres échantillonnages (Tableau 8). La reprise de cette expérimentation aurait été nécessaire pour confirmer cette tendance. De plus, le délais entre le 13^e et le 14^e échantillonnages suggère de possibles variations environnementales hors de notre contrôle.

5.2 Sources des bioaérosols et comparaison des méthodes d'analyses

Ayant comme objectif de mieux comprendre les bioaérosols dentaires ceci implique la caractérisation des sources de ces bioaérosols. Notre étude a comme mandat de démontrer qu'outre la bouche des patients, l'eau des unités dentaires peut être une source importante de bioaérosols.

Dans un premier temps nous avons démontré que la concentration bactérienne moyenne salivaire de nos patients est de l'ordre de plusieurs millions ($6,4x10^8$ bactéries/ml). Cette concentration est en accord avec la littérature actuelle[44] et peut expliquer l'augmentation durant traitements des bioaérosols retrouvés sur gélose sang (AMS). Par ailleurs, en considérant le fait que les nouvelles générations sont plus sensibilisées à une bonne hygiène dentaire et sachant que la médiane d'âge de nos patients était de 25 ans, il n'est pas surprenant que notre cohorte de patients avait une bonne cote d'hygiène dentaire. De plus, la cohorte était composée essentiellement de personnes oeuvrant dans le milieu médical. Considérant que notre cohorte de patient avait une hygiène buccale adéquate et que la majorité des microorganismes cultivables retrouvés dans l'air sont d'origine buccale, les concentrations retrouvées dans l'air de la chambre de traitement pourraient sous-évaluer la charge réelle de microorganismes retrouvés dans l'air d'un cabinet de travail oeuvrant avec une clientèle moins sensibilisée. Par ailleurs, plusieurs observations tendancielles doivent être mentionnées. La concentration bactérienne salivaire (Figure 12) semble directement proportionnelle à l'augmentation de la concentration de bioaérosols détectés par culture sur gélose (Figure 5) et à la moins bonne hygiène dentaire avant traitement (Tableau 9). Par contre, une bonne hygiène dentaire avant traitement (Tableau 9) ne correspond pas nécessairement à de meilleures habitudes quotidiennes d'hygiène dentaire (Tableau 10). Il semble donc, que la concentration bactérienne salivaire et par la fait même la concentration de bioaérosols dentaires soit plus influencée par les soins dentaires avant traitement que par les habitudes quotidiennes d'hygiènes dentaires. Dans notre cas, ces habitudes quotidiennes auraient plus d'influence sur la santé buccale que sur la concentration de bioaérosols. De plus, la comparaison des résultats présentés aux tableaux 9 et 10 suggère que les patients avec les meilleures habitudes quotidiennes d'hygiènes dentaires soient ceux qui ce sont présentés avec la bouche la moins bien entretenue. Par contre, il faut mentionner que le rendez-vous des 1er patients était à 13 heures (juste après diner), suggérant un brossage des dents (Tableau 9), et que pour les 4^{e} patients le rendez-vous était à 16 heures (fin d'après-midi), suggérant aucune hygiène avant traitement.

La présence d'un biofilm dans l'eau des unités dentaires assure la croissance et le maintien d'une forte population bactérienne incluant plusieurs pathogènes[3,6,15]. La détermination de la concentration bactérienne de cette 2^{e} source potentielle de bioaérosols dentaires va permettre ultérieurement d'estimer les risques réels d'infection ou de sensibilisations du personnel dentaire. Notre étude a démontré que l'eau des unités dentaires ($1,7x10^6$ bactéries/ml) est fortement contaminée comparativement à l'eau de ville ($1,0x10^5$ bactéries/ml) et que les pourcentages de viabilité basés sur l'intégrité de la membrane cellulaire sont relativement faibles (40%). En prenant en considération que la majorité des bactéries viables présentes dans l'eau des unités dentaires ont la capacité de se lier au biofilm et que les bactéries mortes sont rejetées, ce pourcentage de viabilité retrouvé n'est pas surprenant. De plus, bien qu'on observe une diminution dans le temps de la concentration bactérienne totale présente dans l'eau des unités dentaires, les concentrations retrouvées sont toujours supérieures à celles retrouvées dans l'eau de ville et cela même après une journée de travail complète. Ceci augmente les chances de retrouver de forte concentration de bioaérosols d'origine hydrique dans l'air. De plus, le dosage des endotoxines de l'eau démontre le même profil, c'est à dire une diminution dans le temps de la concentration d'endotoxines dans l'eau des unités et une différence toujours significative avec l'eau de ville. Le dosage des endotoxines vient renforcer les résultats obtenus en microscopie à fluorescence. De plus, à notre connaissance, c'est la première fois que les endotoxines sont dosées dans l'eau d'unités dentaires. Par ailleurs, suite à la caractérisation par culture sur gélose

de l'eau de l'unité dentaire, il a été démontré que cette dernière était contaminée par des pathogènes respiratoires tels *Legionella* spp. (0,1 UFC/ml) et *Mycobacterium* spp. (2,6 UFC/ml). Par contre, la littérature actuelle soutient que la concentration moyenne de *Legionella* spp. et de *Mycobacterium* spp. dans l'eau des unités dentaires est respectivement de 10^2-10^5 UFC/ml et de 365 UFC/ml, soient des concentration 400 fois plus élevée que celles présentes dans l'eau de ville[6]. La présence de pathogènes respiratoires dans l'eau de l'unité dentaire combinée au recouvrement de plusieurs bactéries sur milieu R2A (bactéries hydriques) lors de l'échantillonnage de l'air, souligne une fois de plus le risque potentiel d'infection ou de sensibilisation du personnel dentaire. Ces résultats devront être confirmés ultérieurement.

Tel que mentionné précédemment, la culture, méthode traditionnelle d'analyse des microorganismes, a été comparée à plusieurs autres méthodes d'analyse, soit la cytométrie en flux et la microscopie à fluorescence. L'analyse d'échantillons environnementaux (eau) ainsi que cliniques (salive) nous a permis de confirmer la sous-estimation imposée par l'utilisation de la culture comme méthode d'analyse lors de la quantification bactérienne totale. Dans les 2 types d'échantillons la sous-estimation de la culture est d'environ 90% par rapport à la microscopie à fluorescence. Cette sous-estimation peut être expliquée par le fait que, comparativement à la culture sur gélose, la microscopie permet un décompte bactérien total des échantillons puisqu'elle tient compte des bactéries viables mais non cultivables, des bactéries mortes mais encore allergènes et de certaines espèces bactériennes difficilement cultivables. D'un autre côté, dans le cas de l'analyse des échantillons d'eau par cytométrie en flux, il semble que le diamètre relativement petit (environ 1 µm) des bactéries combiné à une concentration inférieure à 100 000 bactéries/ml induit une erreur importante lors de la quantification bactérienne. Par le fait même, la cytométrie, sous-estime aussi d'environ 90% la charge microbienne totale par rapport à la microscopie. Comparativement à la culture sur gélose et la microscopie, la variabilité des comptes obtenus par cytométrie, ne permet pas de démontrer une diminution dans le temps de la concentration bactérienne dans l'eau des unités dentaires. Finalement, suite à nos analyses nous suggérons l'utilisation préférentielle de la microscopie à fluorescence pour déterminer la charge totale bactérienne par rapport à la culture et à la cytométrie en flux. La culture reste toujours essentielle pour la caractérisation des microorganismes. De plus, bien que la cytométrie en flux permette l'analyse simultanée et rapide d'une très grande quantité d'échantillons, l'utilisation de cette dernière pour l'analyse des bactéries ne semble pas encore au point.

5.3 Perspectives

Afin de valider la présence de bactéries d'origine hydrique dans l'air des cabinets dentaires, suggérée par l'analyse des bioaérosols recueilli par les impacteurs Andersen, une analyse par PCR-quantitatif sera effectuée. Les genres *Legionella* spp. et *Mycobacterium* spp. et les espèces *P. aeruginosa* et *S. paucimobilis* seront quantifiées par PCR dans l'air des cabinets dentaires. La démonstration d'une espèce bactérienne ubiquitaire de l'eau des unités dentaires (*S.paucimobilis*) et de plusieurs pathogènes hydriques dans l'air des cabinets dentaires confirmera l'aérosolisation des bactéries d'origine hydrique et les risques potentiels d'affection respiratoires du personnel dentaire.

Dans le but d'effectuer une expérience statistiquement valide, les données présentées dans le présent rapport sont le résultat d'une étude effectuée dans un local isolé impliquant des

conditions environnementales contrôlées, une cohorte de patients homogènes et des nettoyages dentaires standardisés. Il est important de poursuivre notre étude des bioaérosols dentaires en recrutant des cabinets dentaires publics qui traitent diverses pathologies et travaillent dans des conditions plus variables afin de vérifier la représentativité de nos données. L'efficacité du port du masque comme outil de prévention de l'exposition est aussi à déterminer.

6. Conclusions

Pour mieux comprendre l'environnement de travail qu'est le cabinet dentaire, nous avons caractérisé les bioaérosols dentaires, mais aussi la source de ces bioaérosols (eau et salive) ainsi que les aérosols totaux. Pour ce faire, les nettoyages dentaires ont été effectués dans des conditions standardisées (ventilation, traitements, local isolé, etc.) mais similaires à un cabinet privé. Notre étude nous a aussi permis de mettre au point différentes méthodes d'analyse complémentaires à la culture. En résumé,

- Les traitements dentaires génèrent des bioaérosols viables et cultivables.
- Pour le local étudié, un arrêt de deux heures des traitements dentaires est suffisant pour obtenir un retour au niveau de base à une ventilation minimale de 1,2 changements d'air/heure.
- Le personnel dentaire et les patients sont exposés à des concentrations de bioaérosols pouvant atteindre 180 000 bactéries/m^3.
- Les traitements dentaires génèrent des bioaérosols d'origine buccale et possiblement hydrique (confirmation par PCR ultérieurement).
- En raison de la nature pathogène de plusieurs bactéries retrouvées dans l'eau des unités dentaires, l'impact de leur aérosolisation devrait être étudié davantage.
- La majorité des aérosols générés lors de traitements dentaires ont un diamètre aérodynamique inhalable (<1 µm).
- Outre la bouche des patients, l'eau des unités dentaires est contaminée par de fortes concentrations bactériennes (1million/ml).
- La microscopie à fluorescence permet une meilleure évaluation de la charge bactérienne présente.
  - Sous-estimation de la culture sur gélose et de la CMF par rapport à la MF.
  - Grande variabilité des comptes par CMF.

En bref, tel que le proposait notre hypothèse de recherche, cette étude a démontré que les traitements dentaires génèrent des bioaérosols.

7. Remerciements

Nous tenons à remercier le Dr Daniel Grenier du GREB pour son accueil, sa grande disponibilité et son aide précieuse pour nous faciliter les démarches au sein de la Faculté de médecine dentaire.

Nos remerciements les plus chaleureux vont à Madame Gaétane Houde, hygiéniste dentaire, qui nous a offert sa collaboration la plus totale. Elle a su concilier le professionnalisme vis à vis des volontaires et la rigueur vis à vis du protocole expérimental, ce qui nous a beaucoup aidés dans la réalisation de ce projet.

Nous remercions également le Dr Marcel Proulx dentiste et professeur à la faculté de médecine dentaire qui assura la couverture des actes professionnels de Madame Houde pendant les traitements.

Nous avons grandement apprécié la collaboration des Docteurs Eric Lacoste et Robert Bouclin, dentistes, qui, malgré un horaire chargé, ont assuré les examens pré-traitements et nous les en remercions.

Nous remercions Serge Simard du centre de recherche de l'Hôpital Laval pour l'analyse statistique, Robert Lalande directeur exécutif de la faculté de médecine dentaire et André Laroche coordinateur en clinique dentaire que nous avons rencontrés pour l'organisation matérielle de ce projet et qui nous ont démontré beaucoup de sollicitude.

Finalement, Caroline Duchaine Ph.D remercie les IRSC et l'IRSST pour l'octroi d'une bourse de Nouveau chercheur. Steve Dutil était supporté par une Bourse d'études supérieures de l'IRSST.

8. Références

1. **ANDERSEN, A. A.** 1958. New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles. J. Bacteriol. **76**: 471-484.

2. **Atlas, R. M., J. F. Williams, and M. K. Huntington**. 1995. *Legionella* contamination of dental-unit waters. Appl. Environ. Microbiol. **61**: 1208-1213.

3. **Barbeau, J.** 2000. Waterborne biofilms and dentistry: the changing face of infection control. J. Can. Dent. Assoc. **66**: 539-541.

4. **Barbeau, J., C. Avezard, B. Zarda, and A. P. Prevost**. 1997. Biofilms in dental unit waterlines: Ultrastructural and cytochemical analysis. Scanning Microscopy International, Chicago, IL 60666 USA.

5. **Barbeau, J. and T. Buhler**. 2001. Biofilms augment the number of free-living amoebae in dental unit waterlines. Res. Microbiol. **152**: 753-760.

6. **Barbeau, J., C. Gauthier, and P. Payment**. 1998. Biofilms, infectious agents, and dental unit waterlines: a review. Can. J. Microbiol. **44**: 1019-1028.

7. **Barbeau, J. and C. Nadeau**. 1997. Dental unit waterline microbiology: a cautionary tale. J. Can. Dent. Assoc. **63**: 775-779.

8. **Barbeau, J., R. Tanguay, E. Faucher, C. Avezard, L. Trudel, L. Cote, and A. P. Prevost**. 1996. Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units. Appl. Environ. Microbiol. **62**: 3954-3959.

9. **Bennett, A. M., M. R. Fulford, J. T. Walker, D. J. Bradshaw, M. V. Martin, and P. D. Marsh**. 2000. Microbial aerosols in general dental practice. Br. Dent. J. **189**: 664-667.

10. **Clark, A.** 1974. Bacterial colonization of dental units and the nasal flora of dental personnel. Proc. R. Soc. Med. **67**: 1269-1270.

11. **Colwell, R. R. and D. J. Grimes**. 2000. Non culturable Microorganisms in the Environment. ASM Society for Microiology. **Chap. 7**: 87-112.

12. **Cormier, Y., E. Israel-Assayag, G. Bedard, and C. Duchaine**. 1998. Hypersensitivity pneumonitis in peat moss processing plant workers. Am. J. Respir. Crit. Care Med. **158**: 412-417.

13. **Cormier, Y., A. Meriaux, and C. Duchaine**. 2000. Respiratory health impact of working in sawmills in eastern Canada. Arch. Environ. Health. **55**: 424-430.

14. **Costerton, J. W., K. J. Cheng, G. G. Geesey, T. I. Ladd, J. C. Nickel, M. Dasgupta, and T. J. Marrie**. 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. Annu. Rev. Microbiol. **41**: 435-464.

15. **Depaola, L. G., D. Mangan, S. E. Mills, W. Costerton, J. Barbeau, B. Shearer, and J. Bartlett**. 2002. A review of the science regarding dental unit waterlines. J. Am. Dent. Assoc. **133**: 1199-1206.

16. **Duchaine, C., Y. Grimard, and Y. Cormier**. 2000. Influence of building maintenance, environmental factors, and seasons on airborne contaminants of swine confinement buildings. AIHAJ. **61**: 56-63.

17. **Duchaine, C. and A. Meriaux**. 2000. Airborne microfungi from eastern Canadian sawmills. Can. J. Microbiol. **46**: 612-617.

18. **Duchaine, C., A. Meriaux, G. Brochu, K. Bernard, and Y. Cormier**. 1999. *Saccharopolyspora rectivirgula* from Quebec dairy barns: application of simplified criteria for the identification of an agent responsible for farmer's lung disease. J. Med. Microbiol. **48**: 173-180.

19. **Duchaine, C., A. Meriaux, P. S. Thorne, and Y. Cormier**. 2000. Assessment of particulates and bioaerosols in eastern Canadian sawmills. AIHAJ. **61**: 727-732.

20. **Duchaine, C., P. S. Thorne, A. Meriaux, Y. Grimard, P. Whitten, and Y. Cormier**. 2001. Comparison of Endotoxin Exposure Assessment by Bioaerosol Impinger and Filter-Sampling Methods. Appl. Environ. Microbiol. **67**: 2775-2780.

21. **Earnest, R. and W. Loesche**. 1991. Measuring harmful levels of bacteria in dental aerosols. J Am. Dent. Assoc. **122**: 55-57.

22. **Forest, P., A. Meriaux, J. Barbeau, and C. Duchaine**. 2000. Exposition des travailleurs aux bioaérosols dans les cabinets dentaires: étude de l'efficacité des méthodes d'analyse par microscopie à épifluorescence et culture. Réunion annuelle conjointe de l'Association des pneumologues de la province de Québec, la Société de thoracologie du Québec et du Réseau en santé respiratoire du FRSQ.

23. **Ghiabi, N.** 1998. Air contamination during use of air abrasion instrumentation. J Clin. Pediatr. Dent. **23**: 37-43.

24. **Goyer, N., S. Jarraud, A. Loy, and G. Marchand**. 2001. Guide technique IRSST, T-23: Les bioaérosols en milieu de travail: guide d'évaluation , de contrôle et de prévention. www. irsst. qc. ca.

25. **Grenier, D.** 1995. Quantitative analysis of bacterial aerosols in two different dental clinic environments. Appl. Environ. Microbiol. **61**: 3165-3168.

26. **Gross, K. B., P. R. Overman, C. Cobb, and S. Brockmann**. 1992. Aerosol generation by two ultrasonic scalers and one sonic scaler. A comparative study. J. Dent. Hyg. **66**: 314-318.

27. **Heederik, D.** 1997. Towards an occupational exposure limit for endotoxins? Ann. Agric. Environ. Med. **4**: 17-19.

28. **Hurst, C. J.** 1997. Manual of Environmental Microbiology. American Society for Microbiology. **Chap. 68**: 629-630.

29. **Kedjarune, U., B. Kukiattrakoon, B. Yapong, S. Chowanadisai, and P. Leggat**. 2000. Bacterial aerosols in the dental clinic: effect of time, position and type of treatment. Int. Dent. J. **50**: 103-107.

30. **Lacey, J. and J. Dutkiewicz**. 1976. Isolation of *Actinomycetes* and fungi from mouldy hay using a sedimentation chamber. J Appl. Bacteriol. **41**: 315-319.

31. **Larato, D. C., P. F. Ruskin, and A. Martin**. 1967. Effect of an ultrasonic scaler on bacterial counts in air. J. Periodontol. **38**: 550-554.

32. **Lu, D. P. and R. F. Zambito**. 1981. Aerosols and cross infection in dental practice--a historic view. Gen. Dent. **29**: 136-142.

33. **MacDonell, M. T. and M. A. Hood**. 1982. Isolation and Characterization of Ultramicrobacteria from a Gulf Coast Estuary. Appl. Environ. Microbiol. **43**: 566-571.

34. **Macher, J.** 1999. Bioaerosols: Assessment and Control. American Conference fo Governmental Industrial Hygienists. **Chap. 1**: 1-1-1-2.

35. **Micik, R. E., R. L. Miller, M. A. Mazzarella, and G. Ryge**. 1969. Studies on dental aerobiology. I. Bacterial aerosols generated during dental procedures. J. Dent. Res. **48**: 49-56.

36. **Miller, R. L. and R. E. Micik**. 1978. Air pollution and its control in the dental office. Dent. Clin. North Am. **22**: 453-476.

37. **Mills, S. E. and R. I. Karpay**. 2002. Dental waterlines and biofilm--searching for solutions. Compend. Contin. Educ. Dent. **23**: 237-40, 242, 244.

38. **Molmeret, M., S. Jarraud, J. P. Mori, P. Pernin, F. Forey, M. Reyrolle, F. Vandenesch, J. Etienne, and P. Farge**. 2001. Different growth rates in amoeba of genotypically related environmental and clinical *Legionella pneumophila* strains isolated from a thermal spa. Epidemiol. Infect. **126**: 231-239.

39. **Noce, L., D. Di Giovanni, and E. E. Putnins**. 2000. An evaluation of sampling and laboratory procedures for determination of heterotrophic plate counts in dental unit waterlines. J. Can. Dent. Assoc. **66**: 262.

40. **Noro, A., N. Yanaka, K. Takahashi, T. Ishikawa, J. Ogino, E. Takahashi, and Y. Suyama**. 1995. A study on prevention of hospital infection control caused by tooth preparation dust in the dental clinic. Part 1. Preventive measures against environmental pollution in the dental clinic caused by microbial particles. Bull. Tokyo Dent. Coll. **36**: 201-206.

41. **Osorio, R., M. Toledano, J. Liebana, J. I. Rosales, and J. A. Lozano**. 1995. Environmental microbial contamination. Pilot study in a dental surgery. Int. Dent. J. **45**: 352-357.

42. **Pagniano, R. P., R. C. Scheid, S. Rosen, and F. M. Beck**. 1985. Airborne microorganisms collected in a preclinical dental laboratory. J Dent. Educ. **49**: 653-655.

43. **Pederson, E. D., M. E. Stone, J. C. Ragain, Jr., and J. W. Simecek**. 2002. Waterline biofilm and the dental treatment facility: a review. Gen. Dent. **50**: 190-195.

44. **Petti, S. and G. Tarsitani**. 1998. Intra-individual variations of salivary microbial levels in young adults. Eur. J. Oral Sci. **106**: 616-622.

45. **Reinthaler, F. F., F. Mascher, and D. Stunzner**. 1988. Serological examinations for antibodies against *Legionella* species in dental personnel. J. Dent. Res. **67**: 942-943.

46. **Selvakumar, A., M. Borst, M. Boner, and P. Mallon**. 2004. Effects of sample holding time on concentrations of microorganisms in water samples. Water Environ Res. **76**: 67-72.

47. **Susanne V.Hering**. 1989. Air Sampling Instruments for evaluation of atmospheric contaminants. American Conference fo Governmental Industrial Hygienists. **Chap. I**: 180-181.

48. **Szewzyk, U., R. Szewzyk, W. Manz, and K. H. Schleifer**. 2000. Microbiological safety of drinking water. Annu. Rev. Microbiol. **54**: 81-127.

49. **Tyndall, R. L. and E. L. Domingue**. 1982. Cocultivation of *Legionella pneumophila* and free-living amoebae. Appl. Environ. Microbiol. **44**: 954-959.

50. **Walker, J. T., D. J. Bradshaw, A. M. Bennett, M. R. Fulford, M. V. Martin, and P. D. Marsh**. 2000. Microbial biofilm formation and contamination of dental-unit water systems in general dental practice. Appl. Environ. Microbiol. **66**: 3363-3367.

51. **Williams, J. F., J. A. Molinari, and N. Andrews**. 1996. Microbial contamination of dental unit waterlines: origins and characteristics. Compend. Contin. Educ. Dent. **17**: 538-40, 542.

9. Annexes

Annexe 1

DOCUMENT D'INFORMATION PRÉALABLE AU FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

Concentration des bioaérosols en cabinet dentaire

Investigateur : **Madame Caroline Duchaine, Ph. D.**
Collaborateurs : **Dr Jean Barbeau, Ph. D.**
Monsieur Louis Lazure, Ing. IRSST
Madame Anne Mériaux

Commanditaire : **IRRST (Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail)**

Le présent document d'information peut contenir certains mots ou expressions que vous ne connaissez pas. Veuillez demander au médecin responsable de l'étude ou au personnel de l'étude de vous expliquer les termes ou l'information que vous ne comprenez pas. Ne signez ce formulaire de consentement que si l'on a répondu de façon satisfaisante à toutes vos questions.

Introduction

Vous êtes invité(e) à participer à cette étude parce que vous subirez un traitement dentaire et que nous désirons prélever des échantillons de l'air ambiant pendant votre traitement.

Buts de l'étude

Les buts de l'étude sont de mesurer les bioaérosols dans l'air des cabinets dentaires lors des traitements dentaires et de vérifier leur persistance dans l'air en fonction du temps et de la distance.

Déroulement de l'étude

L'étude consiste à faire des prélèvements d'air avec différents types d'échantillonneurs pendant un traitement dentaire. Ce traitement durera environ 1 heure et les prélèvements d'air se feront pendant toute la durée du traitement dentaire, le plus près possible de votre bouche (environ 50cm) ainsi qu'à une distance de 3 mètres. Le nombre de prise d'échantillons d'air s'élèvera à 10 (soit 10 traitements). ***Un prélèvement de salive sera effectué afin de faire la culture bactérienne et ainsi comparer avec ce qui sera détecté dans l'air. Aucun échantillon ne sera conservé après la culture et les échantillons ne serviront pas à d'autre fin que celle de la culture.***

Risques

Ces prélèvements d'air ne comportent aucun risque pour vous. Le seul inconvénient est de supporter la présence de deux personnes supplémentaires dans la pièce ainsi que le bruit des pompes des échantillonneurs.

Avantages

Vous ne retirerez aucun bénéfice personnel de votre participation à cette étude. Les résultats pourraient cependant bénéficier aux travailleurs dans les cabinets dentaires.

Compensation financière

Vous ne recevrez aucun paiement pour votre participation à cette étude.

Participation volontaire et droit de se retirer de l'étude

Votre participation à cette étude doit être tout à fait volontaire. Vous êtes libre d'y participer ou de ne pas y participer, de même que de vous en retirer en tout temps sur simple avis verbal de votre part.

Confidentialité et anonymat

Tous les renseignements recueillis à votre sujet au cours de l'étude demeureront strictement confidentiels et anonymes.

Personnes Ressources

Caroline Duchaine
Tél : (418) 656-4760 (bureau)

Anne Mériaux
Tél. : (418) 656-4760 (bureau)

Dr Jean Barbeau
Tél. : (514) 343 2366 (bureau)

Éthique

Ce protocole a été étudié et approuvé par le Comité d'éthique de la recherche de l'Hôpital Laval. Si vous avez des questions, vous pouvez rejoindre le président du comité d'éthique de la recherche, docteur Dollard Bergeron, au numéro 656-8711.

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

Concentration des bioaérosols en cabinet dentaire

ACCEPTATION DE LA PARTICIPATION À L'ÉTUDE

Je _____ soussigné, accepte de participer à l'étude sur la concentration des bioaérosols en cabinets dentaires. Toutes les données de cette étude seront strictement confidentielles et en aucun temps mon nom ne sera dévoilé à qui que ce soit sans mon consentement. Je demeure libre d'interrompre ma participation en tout temps sans subir de préjudice personnel. Une copie de cette formule me sera remise et une autre sera conservée dans le dossier de cette recherche.

J'accepte de participer à l'étude.

Nom **(caractère d'imprimerie)**	Signature	**Date (inscrite par chaque signataire)**
_____	_____	_____
Sujet	Sujet	Date

Affidavit de personnes obtenant un consentement : Je certifie, qu'au meilleur de ma (notre) connaissance, la personne qui a signé le formulaire de consentement comprend la nature, les objectifs, les bénéfices et risques de participer et que sa signature est valide. Il ne semble qu'aucun problème médical, de compréhension due à un problème de langage ou d'éducation n'a interféré avec ces explications.

_____	_____	_____
Explications données par :	Explications données par :	Date
_____	_____	_____
Responsable de l'étude	Responsable de l'étude	Date

Annexe 2

Questionnaire

La participation à ce questionnaire est tout à fait volontaire et est dans le simple but d'améliorer et faciliter l'analyse de nos résultats suite à l'échantillonnage des bioaérosols produits lors du traitement de dentisterie.

Renseignements personnels

Date :_____ Heure : _____

Nom et prénom : _____ # patient : _____

Date de naissance : _____

Les questions suivantes se reportent aux activités que vous avez faites aujourd'hui avant de venir nous voir :

1. À quand remonte votre dernier repas (heure)?: _____
2. Est-ce que vous vous êtes brossé les dents?: _____ Si oui, à quelle heure : _____
3. Avez-vous utilisé la soie dentaire?: _____
4. Avez-vous utilisé un rince bouche?: _____Si oui, à quelle heure : _____
5. Portez-vous un appareil de correction dentaire? : _____

Les questions suivantes sont d'ordre général :

6. A quand remonte votre dernier nettoyage chez le dentiste?
   - ❑ 0 à 6 mois
   - ❑ 6 mois à 1an
   - ❑ 1 an à 2 ans
   - ❑ plus de 2 ans

7. Combien de fois par jour en moyenne vous brossez-vous les dents?
   - ❑ 0 fois par jour
   - ❑ 1 fois par jour
   - ❑ 2 fois par jour
   - ❑ 3 fois par jour
   - ❑ plus de 3 fois par jour

8. Utilisez-vous la soie dentaire :
   - ❑ Régulièrement
   - ❑ A l'occasion
   - ❑ Jamais